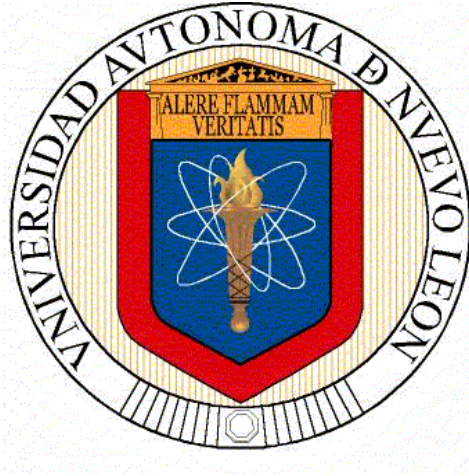


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



TESIS

**“GENES Y POLIMORFISMOS EN TNF ALFA, AIRE Y FOXD3 EN
PACIENTES CON ALOPECIA AREATA EN EL NORESTE DE
MÉXICO”**

POR

CRISTINA SUSANA CANTÚ SALINAS

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN MEDICINA**

JULIO 2015

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



“TITULO DE LA TESIS”

**“GENES Y POLIMORFISMOS EN TNF ALFA, AIRE Y FOXD3 EN
PACIENTES CON ALOPECIA AREATA EN EL NORESTE DE MÉXICO”**

POR

DRA. CRISTINA SUSANA CANTÚ SALINAS

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN MEDICINA**

“Genes y polimorfismos en TNF alfa, AIRE y FOXD3 en pacientes con alopecia areata en el Noreste de México”

Aprobación de la tesis:

**Dra. Rocío Ortiz López
Director de tesis**

**Dr. Med. Santos Guzmán López
Miembro de la comisión de tesis**

**Dr. Med. Oliverio Welsh Lozano
Miembro de la comisión de tesis**

**Dr. Med. Osvaldo T. Vázquez Martínez
Miembro de la comisión de tesis**

**Dr. Med. Raquel Garza Guajardo
Miembro de la comisión de tesis**

**Dr. med. Gerardo Enrique Muñoz Maldonado
Subdirector de Estudios de Posgrado**

DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

Dedico esta tesis a las personas mas importantes de mi vida. Gracias a mis padres la Sra. Blanca Salinas Salinas y al Dr. Noé Jesús Cantú Salinas, a esas dos personas que fueron mi apoyo y mi sustento desde el momento que vine a este mundo, gracias porque sin ustedes no estuviera donde estoy y espero jamás defraudarlos.

Gracias a mis hermanos: Noé, Rene, Alberto y Blanca, que siempre fueron y serán un gran ejemplo a seguir, que no se cansaron de creer en mi, de protegerme, de levantarme cuando me caía y de sostener mi mano cada ves que lo necesitaba.

Gracias a mis abuelos La Sra. Cristina Salinas, El Sr. Marciano Cantú y la Sra. Amalia Salinas, que por ellos tengo a mis maravillosos padres, pero en especial a mi abuelo José Salinas “Pepe Salinas” al que tuve la dicha de atender y aplicar todos mis conocimientos para que el estuviera bien mientras se encontraba entre nosotros, poder tocar su rostro y su piel hasta el ultimo día de su vida.

Gracias a todos mis compañeros dermatologos, en especial a Farah, Caro, Vero, Ale Villareal, Cinthia, Fania, Kristian, Lore, Ale Gzz, Rubi y Martha que fueron unas increíbles personas, gracias por estar conmigo en mis risas, mis lagrimas y por darme la oportunidad de aprender de todos ellos.

Agradezco a mi director de Tesis el Dr. Jorge Ocampo Candiani, a la Dra. Rocio Ortíz y al Dr. Oliverio Welsh por estar siempre junto a mi para atender mis dudas y juntos terminar esta investigación. En especial quiero agradecer a una persona que fue vital en que este trabajo se realizara y que sin el no hubiera podido hacerlo además de enseñarme con tanta paciencia y día a día, mil gracias a Mauricio Salinas, una brillante persona en todos los aspectos de la vida y ahora un excelente amigo.

Gracias a la Universidad Autónoma de Nuevo León, a su facultad de Medicina y al Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, mis grandes casas en donde conocí a gente extraordinaria y en donde tuve la oportunidad de formarme poco a poco como profesionista y como persona

Finalmente quiero agradecer al Dr. Carlos Gerardo Soto Hernández, mi esposo, que me acompañó a realizar este gran sueño de terminar este trabajo que fue todo un reto en mi vida.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I	Página
1. RESÚMEN	1
Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN	3
Capítulo III	
3. HIPÓTESIS	28
Capítulo IV	
4. OBJETIVOS	29
Capítulo V	
5. MATERIAL Y MÉTODOS	30
Capítulo VI	
6. RESULTADOS	36
Capítulo VII	
7. DISCUSIÓN	39
Capítulo VIII	
8. CONCLUSIÓN	41

Capítulo IX

9. ANEXOS	42
9.1 Carta de Consentimiento	42
9.2 Cuestionario	51

Capítulo X

10.BIBLIOGRAFÍA	59
-----------------------	----

Capítulo XI

11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO	70
----------------------------------	----

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	Página
1.Alopecia areata en placas	72
2.Alopecia areata patrón ofiáceo.....	72
3.Alopecia total.....	73
4.Alopecia universal.....	73
5.Patrones del ciclo del crecimiento del pelo en la AA.....	74
6.Patogenia de la AA.....	75
7.Cabello en signo de exclamación.....	75
8.Histopatología de la alopecia areata.....	76

INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1.Total de pacientes que acudieron a la consulta	77
2.Antecedentes personales de los pacientes.....	77
3.Antecedentes familiares de los pacientes.....	78
4.Casos y controles con el alelo polimórfico.....	78
5.Frecuencias genotípicas con el polimorfismo TNFa -308G/A.....	79
6.Frecuencias alélicas con el polimorfismo TNFa -308G/A.....	79
7. Frecuencias genotípicas con el polimorfismo AIREC/G.....	80
8. Frecuencias alélicas con el polimorfismo AIREC/G.....	80

INDICE DE GRAFICAS

Tabla	Página
1.Pacientes incluidos en el protocolo de estudio.....	81
2.Pacientes por grupo de edad.....	81

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: Alopecia areata

AT: Alopecia total

AU: Alopecia universal

TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa

AIRE: Gen regulador autoinmune

FOX: Forkhead

SCID: Severe Combined Immuno Deficiency

HLA: Antígeno leucocitario humano

MCH: Complejo mayor de histocompatibilidad

APECED: Enfermedad autoinmunitaria poliglandular

DNA: Acido dexoxirribonucleico

SAND: segmento de unión al DNA

PHD: Dedos de zinc

ARN:Ácido ribonucleico

IL:Interneucina

TNF β :Factor de necrosis tumoral beta

AIS1: Mapping of an autoimmunity susceptibility locus

C3:Complemento 3

Ig: Inmunoglobulina

ET: Efluvio telógeno

Mg: Miligramos

ML:Mililitros

%: Porciento

DFP: Difencicloporpenona

PUVA: Fototerapia con luz ultravioleta A

IFN- γ : Interferón gamma

CD: Cluster of differentiation

ISRS: inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina

C:Citosina

G:Guanina

A:Adenina

T:Timina

TSNT y Salting Out: Técnica de extracción de proteínas

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

μ l: microlitros

Rpm: Revoluciones por minuto

Min: minutos

Seg: Segundos

NaCl: Cloruro de sodio

Sevag: cloroformo alcohol isoamílico

PCR:Reacción en cadena de polimerasa

RFLP:Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción

Ng:nanogramos

Promega: Taq DNA Polimerasa

Cols:Colaboradores

MgCl: Cloruro de magnesio

dNTPs: Desoxiribonucleotido trifosfato

SPSS:Statistical package for the social sciences

Min: Mínimo

Max:Máximo

Col:Colonia

UANL:Universidad Autónoma de Nuevo León

IRB: Comité institucional de revisión de protocolos

CAPITULO I

1. RESUMEN

Genes y polimorfismos en TNF alfa, AIRE y FOXD3 en pacientes con alopecia areata en el Noreste de México”

Introducción: La Alopecia areata (AA) es un desorden inflamatorio crónico y adquirido caracterizado por la pérdida de cabello por el ataque al folículo piloso con etiopatogenia desconocida hasta el momento. Considerando sus características inflamatorias y su asociación con enfermedades de naturaleza autoinmune, es probable que su origen también sea el mismo.

La citocina proinflamatoria TNF α el gen AIRE así como también FOXD3 con función reguladora autoinmune presentan polimorfismos descritos como factores de riesgo en diversas patologías inflamatorias, en particular aquellos presentes en su región promotora, como es el caso de TNF α -308G/A, FOXD3 -639G/T y en la región codificante como es el caso del gen AIRE 961C/G. Ambos polimorfismos se han asociado con un incremento en su producción o con alteraciones en la regularización teniendo como resultado el desarrollo de enfermedades autoinmunes.

Objetivo: Evaluar si existe una asociación entre la presencia de los polimorfismos TNF α ,AIRE y FOXD3 al desarrollo de AA en parches.

Material. Se obtuvo sangre de 59 pacientes con AA en placas y 103 sujetos controles sin AA de la población del Noreste de México.

Métodos. Se extrajo el ADN por el método del fenol-cloroformo y se empleó la técnica de PCR-RFLP para determinar el polimorfismo TNF α -308G/A y FOXD3 -639G/T. Para analizar el polimorfismo AIRE 961C/G se utilizó PCR de

discriminación con sondas de hibridación. Para la identificación de los alelos se empleó un equipo de tiempo real LightCyclerR.

Resultados. Se encontró que el polimorfismo TNF α -308G/A alelo TNF2 (OR= 3.22, p = 0.026, 95% CI= 0.99-11.61) así como su genotipo heterocigoto (TNF1/TNF2 (OR= 3.53, p = 0.023, 95% CI= 1.01-12.89), confiere un riesgo significativo para AA, comparado con el genotipo TNF1/TNF1 de los controles. El análisis estadístico del polimorfismo en el gen AIRE, indicó, que la presencia del alelo polimórfico no confiere riesgo para el desarrollo de la enfermedad, no se encontraron polimorfismos en FOXD3 en los casos y controles.

Conclusiones. Los datos obtenidos sugieren la posible asociación entre la presencia del polimorfismo TNF α -308G/A y una mayor susceptibilidad al desarrollo de AA en parches, probablemente originado por una sobreproducción de TNF α que favorecería la destrucción del folículo piloso sin embargo en este trabajo no se observó la asociación del gen AIRE y FOXD3 en la AA en placas.

CAPITULO II

2. INTRODUCCIÓN

Antecedentes

La alopecia areata (AA) es una enfermedad impredecible, por lo general se caracteriza por una pérdida irregular de cabello. Cualquier superficie con cabello puede verse afectada. La hipótesis de AA se basa en que es una enfermedad autoinmune órgano-específica mediada por linfocitos T dirigidos a los folículos pilosos. Se ha estudiado una posible predisposición genética así como también la existencia de factores ambientales que pueden desencadenar el inicio de la enfermedad.^{1,2}

Epidemiología

La alopecia areata puede ocurrir a cualquier edad desde el nacimiento hasta la década final de vida. Se ha observado un pico de incidencia que ocurre entre los 15-29 años. Por otra parte se ha descrito que el 44% de las personas con alopecia areata tiene un inicio de la enfermedad antes de 20 años, disminuyendo este porcentaje a un 30% en pacientes mayores de 40 años. En un estudio realizado por Yang y colaboradores en la población china se reportó que la mayoría de los pacientes con AA se encuentran en el rango de edad de 1-40 años (82.6%).³ Porcentajes semejantes han sido encontrados en la población mexicana (84.4%).⁴

Afecta por igual a ambos sexos. En un estudio de 736 pacientes incluidos se reporto una relación varón-mujer 1:1.^{5,6} Al respecto cabe mencionar que en la India se ha reportado que los hombres son más frecuentemente afectados (64.6%).⁷ A partir de los datos obtenidos en un estudio realizado en México en el año 2007 en Guadalajara Jalisco, se describió que la AA fue más frecuente en mujeres (57.7%).⁴

Los estudios epidemiológicos revelan que el número de pacientes afectados con alopecia areata varía en diferentes partes del mundo. Por ejemplo, las frecuencias descritas para ésta patología en China, Estados Unidos y México va desde un 0.02% a 3.8%.⁵ De manera más precisa la prevalencia de alopecia areata en EUA, según la primera encuesta nacional de salud y nutrición que tuvo lugar entre 1971 y 1974, fue de 158 por 100.000 personas, es decir de 0.1-0.2% de la población⁶. En un estudio reciente, realizado en el año 2007 en el Centro dermatológico "Dr. José Barba Rubio" la incidencia observada fue de 0.57%.⁴

Clasificación

La AA puede ocurrir prácticamente en cualquier área donde exista cabello sin embargo la piel cabelluda se afecta aproximadamente el 90% de los casos atendidos en las clínicas de dermatología.⁸ La enfermedad puede clasificarse sobre la base de la medida o patrón de la pérdida de cabello.^{9,10}

La pérdida de cabello puede presentarse como un parche o placa bien

delimitada (más común), varios parches o bien una área extensa de pérdida de cabello . Con base al grado de pérdida , la enfermedad es clasificada de la siguiente manera: La AA en parches o placas , en el que hay una pérdida parcial de el pelo (Figura 1), alopecia con patrón ofiáceo donde existe una pérdida de cabello siguiendo las líneas de implantación (Figura 2), La alopecia total (AT), en el que el 100% de la piel cabelluda se pierde (Figura 3), y La alopecia universal (UA), en el que hay una pérdida del 100% de todas las de la piel cabelluda así como también de el área corporal (Figura 4) . Aproximadamente el 5% de los casos progresan a AT / AU .¹¹

El crecimiento del pelo en la alopecia areata

Es importante mencionar las tres fases en el ciclo de crecimiento del pelo : la fase de crecimiento (anágena), la fase de regresión (catágena), y la fase de reposo (telógena).¹² El ciclo de estas fases es finamente coordinado por la expresión de hormonas, citoquinas, los factores de transcripción, y sus correspondientes receptores y está cuidadosamente regulada a través de rutas resultar en el desarrollo de enfermedades del cabello . En individuos sanos, normalmente la pérdida del pelo ocurre durante la subsiguiente fase anágena en donde se presenta ya un crecimiento de pelo. En el desarrollo de las alopecias , existe una pérdida antes de la reanudación en la fase anágena de crecimiento, dejando a un folículo del pelo visible careciendo de pelo en un estado llamado kenogeno. ¹³

En AA , la alteración en el ciclo de crecimiento del cabello se produce de

manera significativa, pero existen perturbaciones diferentes de pérdida de cabello en función de el patrón, severidad y duración de la AA en cada paciente. Hay varias presentaciones posibles de AA .

En primer lugar, en la fase anágena se puede observar una inflamación importante en el folículo y mantenerse en un estado anágeno distrófico, incapaz de producir pelo de gran tamaño o que este se encuentre integro.¹⁴

Cuando hay una mayor intensidad de inflamación , los folículos pilosos pueden ser sometidas a una fase telógena y posteriormente puede pasar por múltiples fases anágenas – telógenas de corta duración. En consecuencia, la infiltración de células inflamatorias se produce a principios de la fase anágena.^{12,14} Por último, cuando la AA es crónica, el folículo piloso tiende a persistir en una fase telógena prolongada sin un aparente intento de volver a la fase de crecimiento (figura 5).

Etiología

La patogenia de la AA es aún desconocida. Entre los muchos factores que han sido objeto de investigación en la patogenia de la AA, la constitución genética, así como las reacciones autoinmunes órganos específico, han sido las principales áreas de concentración. Hay otras causas reportadas, incluyendo agentes infecciosos, las citoquinas, estrés emocional, los melanocitos y queratinocitos intrínsecamente anormales así como también los factores neurológicos. Las principales áreas de concentración en la patogenia de la AA

se resumen en la figura 6.

El trabajo de Gilhar y Krueger aportó más datos sobre la importancia de las células T en esta enfermedad, ya que demostró que secciones de 2mm de piel cabelluda de pacientes con alopecia areata en placas injertadas en ratones sin timo mostraban crecimiento de pelo. Estos hallazgos sugieren que la alopecia areata puede estar mediada por células inmunitarias como las células T, ausentes en ratones sin timo, o por componentes dérmicos que afectarían al bulbo piloso. Este trabajo se ha ampliado para demostrar que se puede transferir la AA de piel humana trasplantada a ratones SCID mediante la inyección de linfocitos infiltrantes de la piel cabelluda, pero no con homogeneizados de cuero cabelludo no folicular. La transferencia óptima de la pérdida de pelo requiere células t CD4+ y CD8+.¹⁶

Los pacientes con alopecia areata pueden presentar también rinitis alérgica, asma y dermatitis atópica. La dermatitis atópica se ve en 9-26% de los pacientes con alopecia areata, el vitiligo es visto con una incidencia que varía de 1.8-3% en comparación con el 0.3% en los sujetos control; Alteraciones tiroideas fueron encontradas en un 0.85% de 1700 pacientes con alopecia.¹⁷

Las enfermedades de la colagena se han encontrado en 0.6-2% de los pacientes con alopecia areata. La incidencia de la AA en 39 pacientes con lupus eritematoso fue del 10% en un estudio realizado por Werth y colaboradores.¹⁸ La Ansiedad, los trastornos de la personalidad, depresión y trastornos paranoides se consideran con mayor prevalencia y oscilan entre 17-

22% de los pacientes.¹⁹ Entre otras asociaciones se incluyen: la diabetes mellitus, la anemia perniciosa, la miastenia gravis, la colitis ulcerosa y el liquen plano.⁹

Por otra parte, se ha descrito una serie de factores genéticos que intervienen en la susceptibilidad y gravedad de la patología.²⁰ La frecuencia de historia familiar positiva para la alopecia areata en pacientes afectados se ha estimado en 10-20% en comparación con el 1,7% en los sujetos control. La incidencia es mayor en pacientes con enfermedad más grave (16-18%) en comparación con pacientes con AA localizada (7- 13%).¹⁸ Se ha encontrado una tasa de concordancia del 55% en gemelos idénticos, lo que sugiere que influyen factores genéticos y ambientales.^{21.22}

Factores genéticos

Los factores genéticos tienen un papel importante en el origen de la AA. Existe una alta frecuencia de antecedentes de AA en las personas afectadas que van desde 10% hasta un 42% de los casos ^{2,5}. Existe una incidencia significativa de pacientes con inicio temprano de la enfermedad y la presencia de historia familiar con un 37% de incidencia familiar aquellos pacientes con la aparición de placas antes de los 30 años en comparación con un 7.1% con la aparición de las placas después de los 30 años²³.

Se han reportado varios genes relacionados con la presencia de AA como el antígeno leucocitario humano (HLA) del sistema genético localizado en el brazo corto del cromosoma 6, formando el complejo mayor de histocompatibilidad

(MCH), genes altamente involucrados con otras enfermedades de naturaleza autoinmune.^{24,25}

En los últimos se ha estudiado la posible participación del gen AIRE en la patogénesis de la alopecia areata.

El gen regulador autoinmune, más conocido como **AIRE**, localizado en el cromosoma 21p22.3 codifica la proteína AIRE que actúa como regulador transcripcional de antígenos tisulares periféricos, en ciertos tejidos como las células epiteliales medulares del timo.^{26,27}

Es importante que las células T auto-reactivas que reconocen y se unen firmemente a los auto-antígenos se eliminen en el timo (a través de un proceso de selección negativa), ya que de lo contrario pueden reconocer más tarde a sus correspondientes proteínas e iniciar así una reacción autoinmune. La expresión de las proteínas no locales (de tejidos periféricos) por la acción del factor de transcripción *AIRE* reduce la amenaza de que se produzcan posteriormente procesos autoinmunes al permitir la eliminación de las células T que reconocen antígenos normalmente ausentes en el timo.^{26,27,28}

El defecto del gen AIRE induce la aparición de una enfermedad autoinmunitaria poliglandular (APECED) caracterizada por: Poliendocrinopatía autoinmune, candidiasis y distrofia ectodérmica, causando daño contra los órganos endocrinos y otros incluido el folículo; el riesgo de presentar alopecia areata se incrementa a más de un 40% en estos pacientes²⁹. La evidencia de un modelo de ratón knockout sugiere que el nivel de expresión AIRE es fundamental en la regulación de una serie de genes que podrían estar directamente involucrados en la patogénesis del síndrome.³⁰

En un estudio realizado en Irlanda se identificaron en un grupo de 18 pacientes manifestaciones dermatológicas en pacientes con el Síndrome de APECED. Todos los pacientes tenían evidencia de candidiasis mucocutánea crónica, 13 pacientes (75%) presentaban onicomycosis y paroniquia, 6 pacientes (33%) tenían alopecia areata y 2 pacientes vitiligo, comentando la importancia para el dermatólogo de estar consciente de esta asociación ya que es probable que sean los primeros médicos en identificar a estos niños.³¹

Se realizó un trabajo de investigación sobre la detección de la secuencia de codificación AIRE en donde se identificaron 20 variantes. Dos de estas en las posiciones, G961C y T1029C, dando lugar a cambios de aminoácidos, S278R y V301A, que se encuentra en el segmento de unión al DNA (SAND) y PHD₁ dedos de zinc o "zinc finger motif", respectivamente.³²

(Los **dedos de zinc** son pequeñas estructuras de proteínas que contienen uno o más iones de zinc para ayudar a estabilizar sus pliegues. Se pueden clasificar en diferentes familias estructurales y normalmente funcionan como módulos de interacción que unen el ADN, ARN, proteínas y moléculas pequeñas. El nombre de "dedo de zinc" fue acuñado para describir la hipótesis de la estructura de la unidad repetida del factor de transcripción IIIA en *Xenopus laevis*.³³

No se encontraron diferencias en la frecuencia de polimorfismo AIRE T1029C entre el testigo y los grupos de pacientes. Se valoró la genotipificación de 202 pacientes caucásicos con alopecia areata y 175 controles pareados para los

alelos AIRE G961C. La frecuencia del alelo se presentó en 0.08 de los controles observando un aumento significativo en la alopecia areata en general de 0.03 y 0.20 en la enfermedad más severa (alopecia universal) no encontrando ninguna asociación entre la variante AIRE G961G y alopecia leve (en placas).³²

Posteriormente se realizó un estudio con pacientes de origen belga-Alemán (273 pacientes y controles 283). Para confirmar la susceptibilidad genética a la alopecia areata reportado en su artículo previo, sin embargo los resultados de este estudio no son compatibles con una asociación significativa del riesgo de padecer la enfermedad (P=0.126) no apoyando la hipótesis de que el polimorfismo g.961C> G se asocia con un mayor riesgo de AA.³⁴

En cuanto a las citocinas, han sido descritos polimorfismos en una serie de genes tanto para humanos como para otras especies. Entre estas citocinas se ha incluido comúnmente al Factor de Necrosis Tumoral (TNF) α y β , el cual es liberado por las células del sistema inmune.^{35,36,37}

El factor de necrosis tumoral (TFN alfa) es una citocina que es secretada principalmente por los macrófagos, se encuentra implicada en la regulación de un amplio espectro de procesos biológicos como la proliferación celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo lipídico y coagulación.³⁷

Los Loci de TNF son particularmente interesantes, ya que se encuentran localizados dentro de la región del complejo mayor de histocompatibilidad clase III, en el cromosoma 6 humano.^{38,39}

Polimorfismos en estos genes han mostrado una fuerte asociación con una serie de enfermedades de naturaleza autoinmune e inflamatoria entre las que se pueden mencionar artritis reumatoidea,^{40,41} lupus eritematoso sistémico,⁴² enfermedad de Crohn,⁴³ Diabetes tipo 1 ⁴⁴ y tipo 2,⁴⁵ enfermedades cardiacas,⁴⁶ enfermedad pulmonar obstructiva crónica ⁴⁷ y asma ⁴⁸ entre otras.

TNF alfa es bien conocido por desempeñar un papel importante en la patogénesis de la alopecia areata. Se sintetiza en los queratinocitos epidérmicos junto con varias otras citoquinas.⁴⁹ En estudios in vitro han demostrado que TNF alfa junto con IL-1*a* y IL1-*b*, causan vacuolización de las células de la matriz dentro del bulbo del folículo, una disminución del tamaño de la matriz, desorganización de los melanocitos, una diferenciación folicular y queratinización de las células precorticales y de la vaina interna de la raíz anormales.⁵⁰

El primer polimorfismo descrito para el promotor de este gen fue TNF -308 G/A. Se ha descrito que éste “alelo raro” se presenta con una prevalencia del 20% en la población blanca, y ha sido asociado con un aumento en la producción de TNF y el desarrollo de enfermedades autoinmunes.^{51,52}

En el caso de la AA se ha descrito alteraciones en los niveles de TNF- α que conducen a cambios en el crecimiento normal del folículo piloso,⁵³ así como la existencia de asociación entre la presencia del polimorfismo TNF- α -308 y el desarrollo de esta patología.⁵⁴

En estudios previos en mexicanos se ha determinado la frecuencia de los alelos para el promotor de TNF-alfa además de reportarse asociación entre la presencia de polimorfismos en la secuencia promotora de TNF- α -308 G/A ⁵⁵ y su potencial participación en una serie de enfermedades de naturaleza autoinmune/inflamatoria.^{56,57,58,59}

Un grupo de investigadores estudiaron las frecuencias alélicas (-308 y -238 G/A) en una población de pacientes con alopecia areata comparándolos con un grupo control. No se observó una diferencia en la distribución fenotípica de TNF alfa -238 y -308 en los grupos de estudio. Sin embargo al dividir y comparar a los pacientes hubo una diferencia significativa en la distribución de los fenotipos del polimorfismo -308 en pacientes con alopecia areata en placas en comparación con los pacientes con alopecia total/universal ($p=0.003$). Concluyendo que el polimorfismo se presenta más frecuentemente en pacientes con alopecia areata en placas comparado con el grupo de alopecia total/universal.³⁶

Hasta el momento no se han realizado estudios para determinar asociación entre la presencia de polimorfismo en la región promotora de TNF- α y alopecia areata en población mexicana.

Los genes FOX (forkhead) es una familia de genes que cuenta con un grupo diverso de factores de transcripción que juegan un papel importante en el desarrollo, el metabolismo, el cáncer y el envejecimiento.

Estos genes participan en mecanismos de inmunorregulación en varios linajes de células inmunes, y su desregulación probablemente contribuye a la patogénesis de varios desórdenes inmunológicos.

Uno de los genes pertenecientes en la familia que es de interés a estudiar es **FOXD3** localizado en el cromosoma 1 (1p31.3) siendo un modulador primario de la diferenciación de los melanoblastos en la cresta neural embrionaria.⁶⁰

Su expresión regula la emigración de células de la cresta neural que da lugar a los melanocitos.⁶¹

La inhibición in vitro así como in vivo de FoxD3 a principios de la migración de las células de la cresta neural da lugar a una expansión de melanoblastos a expensas de otros linajes. Por el contrario, la sobreexpresión de FoxD3 en la migración de las células de la cresta neural previene la formación de melanoblastos.⁶²

Mediante estudios de asociación se ha determinado que el polimorfismo FOXD3 -639G>T, puede estar involucrado en un aumento en la actividad transcripcional de este gen, con una consiguiente supresión o alteración en las perfiles de diferenciación.

Las Mutaciones en FOXD3 dan lugar a una regulación positiva de

transcripción interfiriendo con la diferenciación del melanoblasto y predisponer al vitiligo, enfermedad fuertemente asociada con Alopecia areata.⁶³

La asociación de la alopecia areata con trastornos autoinmunes ha llevado a una intensa búsqueda de enfermedades de dicha índole. El vitiligo es una enfermedad adquirida caracterizada por maculas acromicas en la superficie de la piel, así como también pérdida de pigmento en el cabello por la destrucción de los melanocitos en dicha región a menudo también asociada con otros trastornos autoinmunes.^{64,65}

En muchos casos ocurren esporádicamente con un patrón familiar sugiriendo una teoría multifactorial poligénica. Sin embargo se ha descrito previamente una familia con vitiligo notable, progresivo, de inicio temprano segregado con un rasgo autonómico dominante con penetrancia incompleta aparente.⁶⁶

Mediante análisis de ligamiento genético se asignó un locus de susceptibilidad AIS1 a un intervalo de 7.4mb del cromosoma 1p31. El intervalo AIS1 contiene 27 genes incluyendo a un candidato que es FOXD3.⁶⁶

A pesar de la fuerte asociación del vitiligo con alopecia areata, hasta el momento no se han realizado estudios para determinar asociación entre la presencia de polimorfismo en la región promotora de FOXD3 y alopecia areata.

Cuadro clínico

La alopecia areata se presenta clásicamente de manera asintomática observando placas desprovistas de cabello pudiendo encontrar la piel ligeramente enrojecida, acolchonada, lisa y brillante.^{8,15}

Un hallazgo característico que se observa con frecuencia en las áreas afectadas son los "cabellos en signo de exclamación"⁸ Estos son pelos cortos que son cónicos en el extremo proximal y amplios en su parte distal (Figura 7). En la enfermedad activa, cuando las placas de alopecia se están expandiendo, el "pull test" resulta positivo en la periferia de las lesiones.⁹ Una característica interesante de AA es la pérdida del pigmento en el cabello que comienza a nacer o que se está perdiendo. Sin embargo por lo general el color regresa con el tiempo.⁶⁷ La enfermedad suele ser asintomática, aunque algunos pacientes informen prurito, sensaciones de ardor o dolor antes de la pérdida del cabello comienza.⁷

Diagnóstico

El diagnóstico de la AA es clínico, sin embargo, si se tiene duda lo más recomendable es la toma de biopsia en donde se puede observar diferentes patrones de acuerdo al estadio clínico de la enfermedad. La primera etapa de AA se caracteriza por un aumento en el número de los folículos pilosos en catágeno y telógeno, la presencia de infiltrado inflamatorio linfocitario en la región peribulbar ("enjambre de abejas") y eosinófilos^{68,69} (Figura 8). La matriz del pelo está infiltrada por linfocitos y también se puede observar incontinencia de pigmento, necrosis de células de la matriz, y daño vacuolar. El infiltrado está compuesto principalmente por linfocitos T.^{70,71,72} Los estudios de inmunofluorescencia han demostrado depósitos de

C3, IgG e IgM en la membrana basal de la parte inferior del folículo piloso.⁷³ La infiltración linfocítica folicular se acompaña de la progresión a fases catágena y telógena. Después de esto, el folículo retorna rápidamente a la fase anágena y el ciclo se repite. Debido a este ciclo continuo y el proceso inflamatorio que acompaña, el folículo pasa a través de dos importantes cambios morfológicos. La tricomalacia que se caracteriza por cortos, y queratinizados de manera incompleta (en punta de lápiz) estos pelos son susceptibles al trauma, y la miniaturización de algunos folículos.⁶⁸ La última etapa de la enfermedad se caracteriza por numerosos folículos pilosos miniaturizados y folículos en telógeno se encuentran presentes.^{74,75} La recuperación incompleta pueden demostrar una gran cantidad de folículos anágenos diminutos, con un gran porcentaje de ellos con el infiltrado prebulbar típico. El número de melanocitos y melanización general se reduce, ya que la activación de los melanocitos se presenta de manera parcial en algunos casos.⁷⁶

Diagnostico diferencial

En los niños, las entidades más importantes para descartarse son la tiña de la cabeza y la tricotilomanía. La tiña de la cabeza puede ser diferenciada por la presencia de inflamación o por lo menos descamación leve. La tricotilomanía puede implicar lesiones irregulares, la presencia de pelos rotos con longitudes que varían así como también una textura áspera, a diferencia de la superficie

lisa de AA. La diferenciación de las AA difusas con un efluvio telógeno (ET) puede ser un reto. La historia del paciente puede revelar un factor desencadenante que puede apuntar hacia un diagnóstico de ET. En la AA difusa, la prueba de tirar del cabello puede mostrar algunos pelos anágenos distróficos en comparación con los pelos telogenos puros que se encuentran en el ET. En última instancia, una biopsia de piel cabelluda puede ser necesaria para diferenciar correctamente la AA difusa y el TE. La sífilis y el lupus también pueden ser consideradas en el diagnóstico diferencial de AA y pueden requerir pruebas serológicas o de una biopsia del cuero cabelludo para su confirmación. Cuando existe una asociación de pérdida de cabello universal entre familiares, el diagnóstico diferencial puede incluir una condición genética hereditaria que es llamada atriquia congénita.⁷⁷

Tratamiento

Varios agentes terapéuticos han sido descritos para el tratamiento de la AA, pero ninguno es curativo o preventivo. El objetivo del tratamiento de AA es suprimir la actividad de la enfermedad. Una revisión de Cochrane demuestra que la alta tasa de remisión espontánea y la escasez de ensayos controlados hacen difícil la evaluación de las terapias para esta patología.

Corticoides intralesionales

Aunque los corticosteroides intralesionales se han utilizado en el tratamiento de

la AA por mas de 50 años, no han sido publicado ensayos aleatorizados controlados.^{78,79} Para los pacientes adultos con una afectación menor al 50% se considera el acetónido de triamcinolona como terapia de primera línea. Se pueden utilizar concentraciones de 2,5 a 10 mg / ml , pero 5 mg / ml es la concentración mas utilizada por los expertos, para las cejas y la cara se puede utilizar 2,5 mg / ml. En intervalos de 4 a 6 semanas.

Los efectos secundarios incluyen atrofia transitoria y telangiectasias, que pueden ser prevenidas mediante el uso de volúmenes más pequeños, reduciendo al mínimo el número de inyecciones por cada sitio, y evitar las inyecciones demasiado superficiales (intraepidérmicas). Si no existe mejoría al completar 6 meses de tratamiento, este debe de ser suspendido.⁸⁰

Corticosteroides tópicos

Las diferentes formas de los corticosteroides tópicos se han utilizado para tratar la AA, con diversos grados de eficacia. En un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo se utilizó desoximetasona 0,25% crema, observando una tasa de crecimiento completo del grupo activo y el control de 57,6% y 39,2%, respectivamente. ⁸¹

En un estudio de aplicación unilateral de propionato de clobetasol 0,05% bajo oclusión en pacientes con alopecia total (AT) / alopecia universalis (AU), demostraron que el 28,5% de los pacientes tenían nuevo crecimiento del

cabello casi de manera total. En otro estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, el 47% de los pacientes con AT que habían utilizado propionato de clobetasol al 0,05% en espuma tenían más de un 25% del crecimiento del cabello, y el 25% de los participantes tenían nuevo crecimiento del pelo superior al 50%.⁸² Como efectos colaterales se han observado, atrofia, telangiectacias y foliculitis.

Minoxidil

El minoxidil se desarrolló inicialmente como tratamiento antihipertensivo. A pesar de que este medicamento ha sido utilizado como un tratamiento para el crecimiento del cabello por más de 20 años, su mecanismo de acción no se entiende completamente. Muchos mecanismos de acción han sido propuestos, incluyendo vasodilatación, angiogénesis, proliferación celular mejorada y la apertura de los canales de potasio.^{83,84} Hay algunos informes que indican que el minoxidil también tiene algunos efectos inmunosupresores.⁸⁵

En un estudio doble ciego, controlado con minoxidil tópico al 3% aplicado en pacientes con AA extensa se demostró el crecimiento del cabello en el 63,6% y 35,7% en los grupos tratados y placebo, respectivamente. Sin embargo, el crecimiento del cabello cosméticamente aceptable sólo se observó en el 27,3% de los pacientes. El minoxidil tópico es menos efectivo en AT y AU. En la Universidad Británica de Columbia, se utiliza con otras opciones terapéuticas como tratamiento adyuvante.

La dermatitis por contacto puede ocurrir en el 6% de los pacientes según lo reportado en la literatura.⁸⁶ Debido a que la espuma de minoxidil al 5% no contiene propilenglicol (un irritante potencial), la incidencia de prurito es menor en comparación con la solución (1,1 vs% 6%).⁸⁷ La hipertrichosis, ha sido un efecto secundario en 3% de los pacientes.⁸⁸

Antralina

Hay algunas series de casos no controlados que evalúan la eficacia de antralina en el tratamiento de la AA. Schmoeckel y col mostraron tasas de respuesta del 75% en los pacientes con AA irregular y 25% en los pacientes con AT. Sin embargo, otros estudios han mostrado resultados menos satisfactorios.⁸⁹

El mecanismo de acción de la antralina se desconoce, en estudios con ratones se ha demostrado que disminuye la expresión del factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) y beta (TNF- β) en el área tratada.⁹⁰ La crema de antralina al 1% se puede aplicar como una terapia de contacto inicialmente de 20 a 30 minutos al día, el tiempo se incrementa gradualmente por 10 minutos a intervalos de 2 semanas hasta 1 hora o hasta que se desarrolla una reacción de dermatitis de bajo grado, si obtenemos este resultado el tratamiento se prolonga por 3 meses.⁹¹

Los efectos adversos a la antralina incluyen irritación severa, foliculitis y

linfadenopatía.^{91,92} Los pacientes deben evitar el contacto visual con este producto químico y la zona tratada debe protegerse del sol.

Inmunoterapia tópica

Difencicloporpenona (FPD) es un excelente tratamiento para los adultos con afectación mayor del 50% en piel cabelluda. Muchas teorías se han propuesto para el mecanismo de acción de los sensibilizantes tópicos. Estos incluyen la competencia antigénica,⁹³ apoptosis perifolicular de linfocitos,⁹⁴ y los cambios en la relación de linfocitos CD4/CD8 en la zona peribular.^{95,96}

FPD al 2% se aplica en una zona circular de la piel cabelluda para sensibilizar al paciente. Dos semanas más tarde, una solución FPD 0,001% se aplica a la misma mitad de piel cabelluda. La concentración de la FPD se incrementa gradualmente cada semana hasta obtener una dermatitis alérgica leve, objetivo es lograrlo durante 24 a 36 horas después de la aplicación. Después de establecer la concentración adecuada para el paciente, el tratamiento debe continuarse de forma semanal. FPD se debe dejar en la piel cabelluda durante 48 horas y luego enjuagarse. Los pacientes no deben exponer la zona tratada al sol durante este tiempo.

Aunque no hay suficientes ensayos controlados aleatorios con otro sensibilizante, se ha observado una regeneración de cabello del 60% en pacientes con AA que presentan placas irregulares y una respuesta del 17.4% en pacientes con AT/AU.³⁸

Como efectos adversos podemos encontrar reacciones ecematosas en el sitio tratado, linfadenopatía cervical y occipital^{97,98}, edema en piel cabelluda, urticaria de contacto⁹⁹, síntomas de gripe, eritema multiforme¹⁰⁰ y alteraciones pigmentarias (hiperpigmentación, hipopigmentación y discromías en confeti)^{101,102}. los pacientes de piel más oscura tienen más predisposición a estos cambios en la pigmentación.

Terapia sistémica

Corticosteroides sistémicos

Se han utilizado varias formas de corticosteroides sistémicos descritos en la literatura obteniendo una buena respuesta ante los casos de difícil manejo¹⁰³. En un ensayo controlado con placebo de prednisolona oral 200 mg una vez por semana durante 3 meses, demostró un crecimiento moderado del cabello (31-60%)¹⁰⁴, 10% de los pacientes tratados tuvieron una tasa de crecimiento superior al 60% en comparación con ninguna respuesta en los del grupo placebo. Otras formas de administración de corticosteroides sistémicos incluyen: prednisona 1mg/kg/ día¹⁰⁵, prednisolona por vía oral 300 mg una vez al mes¹⁰⁶, prednisolona intravenosa 2 g en dosis única¹⁰⁷, metilprednisolona por vía intravenosa 250 mg dos veces al día durante 3 días, y 5 mg de dexametasona dos veces por semana durante un período mínimo de 12 semanas.¹⁰⁸

Los inconvenientes al uso de los corticosteroides sistémicos incluyen sus

múltiples efectos adversos y la alta tasa de recaídas después de la reducción de la dosis. Los efectos secundarios de los esteroides sistémicos incluyen hiperglucemia, osteoporosis, cataratas, inmunosupresión, obesidad, dismenorrea, acné y síndrome de Cushing.^{109,110}

Fotoquimioterapia

Las tasas de respuesta de el psoraleno oral o tópico más la fototerapia con luz ultravioleta A (PUVA) son muy diferentes, que van desde menos del 15% a más del 70% en ensayos no controlados. Dos estudios grandes retrospectivos, mostraron que la tasa de respuesta no es mejor que la tasa de remisión espontánea.^{111,112} Debido a las tasas de recaída que se reportan en la literatura, la falta de ensayos aleatorizados, controlados, y el aumento del riesgo de tumores cutáneos malignos con el uso de PUVA, esta línea de terapia se ha convertido en una opción de tratamiento menos favorecida.

Ciclosporina

La ciclosporina es un agente inmunosupresor que inhibe las células T colaboradoras y suprime la activación de interferón gamma (IFN- γ). Las tasas de éxito varían con un rango de 25% en algunos estudios a 76,7% en otros si se combina con metilprednisolona. Debido a su perfil de efectos adversos (especialmente la nefrotoxicidad, la supresión inmune, y la hipertensión), alta tasa de recaídas, y la necesidad de tratamiento a largo plazo, su uso no se

recomienda como tratamiento de primera línea.^{113,114}

Metotrexate

Se ha utilizado con un buen resultado en combinación con esteroides sistémicos. En un estudio retrospectivo no controlado utilizando 25 mg de metotrexate por semana en combinación con 20 mg al día de prednisona oral se obtuvo una recuperación total de 64% de pacientes con AT/AU 22 AT ¹¹⁵. Sin embargo estos resultados deben ser confirmados en ensayos controlados para validar los resultados anteriores.

Inhibidores tópicos de la calcineurina

Tacrolimus y pimecrolimus se han probado en varias series de casos en el tratamiento de la AA, pero los resultados no han sido alentadores. El fracaso del tratamiento tópico con tacrolimus al 0,1 % puede ser causada por insuficiente profundidad de la penetración de la formulación en pomada y menos de la selección óptima de los pacientes. Mayores concentraciones de la pomada de tacrolimus y grandes ensayos controlados aleatorios son necesarios.^{116,117}

Bexaroteno

El bexaroteno al 1% en gel se evaluó en un estudio simple ciego incluyendo a 42 pacientes con AA. 5 pacientes (12%) tenían un 50% o más de crecimiento

parcial en el lado tratado, y seis pacientes (14%) tuvieron una respuesta en ambos lados. algún grado de irritación en la piel se experimentó en un 73% de los pacientes. El mecanismo de acción se cree que es a través de la inmunomodulación y la inducción de la apoptosis de las células T. La eficacia de el uso del bexaroteno debe de ser confirmado en ensayos aleatorios y ensayos controlados con placebo.^{118,119}

La capsaicina

La idea de utilizar la capsaicina en AA surgió por el papel de neuropéptidos en el desarrollo de la enfermedad. La crema de capsaicina al 0,075% dio lugar a la regeneración del pelo en 2 pacientes después de 3 semanas de tratamiento. En un reciente estudio no ciego, 50 pacientes con AA en placas fueron aleatorizados para recibir tratamiento con capsaicina en ungüento o clobetasol 0,05% pomada durante 6 semanas, se observó un crecimiento más temprano en el grupo de la capsaicina (2da semana de tratamiento) y se observó un nuevo crecimiento cosméticamente en el 9,5% de los pacientes en la semana 12 en ambos grupos. Estos resultados deben se apoyarse con estudios controlados con placebo para ser añadido posteriormente como una excelente opción terapéutica de AA.¹²⁰

Biológicos

La AA es considerada una enfermedad autoinmune en donde las células T juegan un papel muy importante en esta patología. Diversos fármacos biológicos han sido investigados en el tratamiento de la AA. En un estudio prospectivo, piloto, Strober y col¹²¹. demostraron que etanercept, un inhibidor de TNF- α , no es eficaz para tratar los casos de AA moderada a severa. Un ensayo controlado con placebo de efalizumab subcutáneo, un anticuerpo anti-CD11a, en donde participaron 62 pacientes con AA no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de efalizumab y el placebo e un transcurso de 3 a 6 meses de seguimiento.¹²²

Apoyo psicosocial

La a AA se asocia con una alta comorbilidad psiquiátrica (principalmente trastornos de adaptación, trastornos de ansiedad generalizada y trastornos depresivos).¹²² La eficacia de los antidepresivos en el tratamiento de AA no ha sido evaluada en ensayos controlados aleatorizados. En un pequeño estudio de 8 pacientes con AA tratados con 20 mg de paroxetina, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), y 5 pacientes tratados con placebo durante 3 meses, el crecimiento completo del cabello se observó en dos pacientes en el grupo tratado con paroxetina en comparación con un paciente en el grupo placebo, 4 pacientes en el grupo tratado con paroxetina mostraron crecimiento parcial.¹²³ Los grupos de apoyo que programan reuniones regulares con los pacientes con AA y miembros de la familia puede ser un

recurso muy valioso para ellos. Los pacientes pueden obtener apoyo emocional e información que pueden ayudar a desarrollar estrategias positivas de afrontamiento, mejorar la calidad vida, que el cumplimiento del tratamiento sea mejor.

CAPITULO III

3.- HIPÓTESIS

Existe una correlación directa entre las alteraciones encontradas en diversos genes y un aumento de la susceptibilidad para presentar alopecia areata que el resto de la población

Hipótesis nula: No existe una correlación directa entre las alteraciones encontradas en diversos genes y un aumento de la susceptibilidad para presentar alopecia areata

CAPITULO IV

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Identificar los polimorfismos 961C/G, -308G/A y -639G/T en los genes: AIRE, TNF α y FOXD3 respectivamente en pacientes con alopecia areata en Hospital Universitario "Dr. José E. González".

4.2 Objetivos específicos

- A) Seleccionar pacientes con alopecia areata que consulten en el departamento de Dermatología del Hospital Universitario "Dr. José E. González" en un periodo comprendido entre Marzo del 2010 a Marzo del 2011.
- B) Clasificar a los pacientes de acuerdo al tipo de alopecia areata que presentan. Del universo de candidatos, serán seleccionados todos aquellos sujetos que cumplan con los criterios de inclusión establecidos en el protocolo.
- C) Establecer un banco de datos y ADN de los pacientes seleccionados, al igual que un grupo control con características similares a los pacientes sin alopecia areata.
- D) Determinar y comparar la frecuencia alélica y genotípica de los genes en estudio en pacientes con y sin alopecia areata: TNF α , FOXD3, AIRE.

CAPITULO V

5. MATERIAL Y MÉTODOS

- Diseño metodológico del estudio:
- Observacional
- Transversal
- Comparativo de casos y controles

5.1 Selección de pacientes

- Criterios de inclusión.
 - Sujetos con alopecia areata.
 - El sujeto debe estar dispuesto a otorgar el consentimiento informado escrito.
 - Varones y mujeres de todas las edades que deseen participar en la investigación.
 - Para menores de 18 años será solicitada la autorización de los padres o tutor legal.
 - Mexicanos , cuyos padres sean mexicanos.
 - Noreste de México.
- Criterios de exclusión.
 - Sujetos que no presenten alopecia areata.
 - Que no acepte participar del protocolo de investigación y no firme

el consentimiento informado escrito.

- Sujetos extranjeros o hijos de padres extranjeros.
- Sujetos que no fueran del noreste de México.

5.2 Descripción de protocolo en laboratorio:

5.2.1 Material biológico

Se obtuvieron muestras de sangre venosa periférica de 3-5 ml, el DNA genómico se extrajo a partir de estas muestras mediante la técnica de TSNT y Salting Out.

Se obtuvo una biopsia tanto del tejido sano (sin lesión) como afectado de no más de 1cm de diámetro de los pacientes con AA en placas, la cuál se almacenó en RNAlater® durante 24 horas en refrigeración a 4 grados centígrados y posteriormente congeladas a -80 grados centígrados hasta el momento de ser procesadas.

5.2.2 Procesamiento de muestras

Extracción de DNA genómico

Muestras de sangre periférica, anticoagulada con EDTA fueron empleadas para obtener DNA genómico mediante la técnica de lisis alcalina. A partir de 3 a 5 ml de sangre, centrifugado a 4,000 rpm por 5 min., fue recuperado 500µL de la interfase, correspondiente al paquete de leucocitos, en un microtubo de 2 ml.

La lisis se realizó agregando 200µL de buffer TSNT (2% Triton X100, 1% SDS,

100mM NaCl, 10mM Tris HCl pH 8, 1mM EDTA pH 8) y mezclando durante 30 seg. con vortex. Inmediatamente se agregó 500µl de fenol saturado, mezclando nuevamente con vortex durante 30 seg. Posteriormente se adicionó 100µl de la sevag (cloroformo alcohol isoamílico 24:1) y se mezcló durante 5 min. con vortex. Transcurrido este tiempo fue agregado 100µl de TE 1X y mezclado nuevamente con vortex durante 30 segundos. El tubo fue centrifugado durante 8 min. a 14,000 rpm. La fase acuosa superior fue transferida a un microtubo de 1,5 ml donde el DNA genómico fue precipitado con 2 volúmenes de etanol al 100 % y mezclado por inversión. Después de centrifugar 8 min. a 14,000 rpm, fue descartado el sobrenadante y lavada la pastilla con 500µl de etanol al 70 % frío. Finalmente fue centrifugado 8 min. a 14,000 rpm, eliminado el sobrenadante y secada la pastilla de DNA a temperatura ambiente durante 2 a 4 hrs. para posteriormente resuspender en 200µl de TE 1x y almacenar en refrigeración hasta el momento de su utilización.

5.2.3 Identificación de mutaciones y polimorfismos

Genotipificación del polimorfismo TNF- α -308

La genotipificación del polimorfismo señalado para el promotor de TNF- α (TNFa - 308G/A), fue realizada utilizando PCR-RFLP con una modificación al método reportado por Chen y cols.⁶⁰ La reacción de PCR fue realizado en un volumen de 25 µL conteniendo 250 ng de DNA genómico, 0.5 µM de cada uno de los oligonucleótidos Iniciadores (TNF-308F 5`gggACACACAAGCATCAAgg3` y TNF- 308R 5`AATAggTTTTgAgggCCATg 3`), 0.2 mM de dNTPs, 1.5 mM de MgCl₂, y 2.5 U de Taq DNA Polimerasa (Promega). Las condiciones utilizadas

para la amplificación incluyen 35 ciclos de 94 grados centígrados por 30 segundos, 61 grados centígrados por 30 segundos y 72 grados centígrados por 30 segundos. Los productos obtenidos luego de la PCR fueron digeridos durante toda la noche a 37 grados centígrados con la endonucleasa de restricción NcoI (New England Biolabs). Todos los productos obtenidos a partir de las digestiones fueron resueltos mediante electroforesis en geles de Agarosa al 3%, teñidos con bromuro de etidio, y analizados en un sistema de documentación de geles (UVP modelo M-26; Upland, CA).

Genotipificación del polimorfismo FOXD3 -639

La genotipificación del polimorfismo señalado para el promotor FOXD3 (FOXD3 - 639G/T) fue realizada utilizando PCR-RFLP. La reacción de PCR fue realizado en un volumen de 25 µL conteniendo 250 ng de DNA genómico, 0.5 µM de cada uno de los oligonucleótidos Iniciadores (FOXD3-639F 5' AACACgATATgggAACCTC-3' y FOXD3-639R 5'- AggACTggCCTgATAgATTAC-3'.) 0.2 mM de dNTPs, 1.5 mM de MgCl₂, y 2.5 U de Taq DNA Polimerasa (Promega). Las condiciones utilizadas para la amplificación incluyen 40 ciclos de 94 grados centígrados por 30 segundos, 57 grados centígrados por 30 segundos y 72 grados centígrados por 30 segundos. Los productos obtenidos luego de la PCR fueron digeridos durante toda la noche a 37 grados centígrados con la endonucleasa de restricción DdeI (New England Biolabs). Todos los productos obtenidos a partir de las digestiones fueron resueltos mediante electroforesis en geles de Agarosa al 1.5%, teñidos con bromuro de

etidio, y analizados en un sistema de documentación de geles (UVP modelo M-26; Upland, CA).

Genotipificación del polimorfismo AIRE 961

La genotipificación del polimorfismo señalado para la región codificante del gen AIRE (AIRE 961C/G) fue realizada utilizando PCR-RFLP. La reacción de PCR fué realizado en un volumen de 25 µL conteniendo 250 ng de DNA genómico, 0.5 µM de cada uno de los oligonucleótidos Iniciadores (Aire S278R-F 5'-gCTgCCCCATTgCT-3' y Aire S278R-R 5'-ggCCTCTCCTgTggTCT-3'.) 0.2 mM de dNTPs, 1.5 mM de MgCl₂, y 2.5 U de Taq DNA Polimerasa (Promega). Las condiciones utilizadas para la amplificación incluyen 40 ciclos de 94 grados centígrados por 30 segundos, 56 grados centígrados por 30 segundos y 72 grados centígrados por 30 segundos.

Los productos obtenidos luego de la PCR fueron digeridos durante toda la noche a 37 grados centígrados con la endonucleasa de restricción NlaIV (New England Biolabs). Todos los productos obtenidos a partir de las digestiones fueron resueltos mediante electroforesis en geles de Agarosa al 3%, teñidos con bromuro de etidio, y analizados en un sistema de documentación de geles (UVP modelo M-26; Upland, CA).

Con estos datos se realizará un nuevo análisis estadístico que nos permite si existe correlación entra la observación clínica y el componente genético.

5.3 Tamaño de muestra

Se calculó el tamaño de muestra para población finita, se consideró 4.5

millones de personas de Nuevo León y una frecuencia de la enfermedad del 0.057% con un error aceptable del 3% y un 99% de poder teniendo como resultado una “n” de 34 pacientes.

5.4 Análisis estadístico

Se creará una base de datos con la información obtenida. El análisis estadístico se efectuará por medio de SPSS versión 17.0 (SPSS Inc.; Chicago, Illinois) y EPIINFO statistical program versión 3.5.1 (USD Incorporated 2008, Stone Mountain, GA, USA). El equilibrio de Hardy-Weinberg se determinará mediante una prueba de bondad de ajuste. El grado de dependencia genotípica entre pacientes y controles será obtenida usando una prueba de chi cuadrada.

CAPITULO VI

6.RESULTADOS

A través de campañas abiertas al público fueron invitados a participar pacientes provenientes de diferentes estados del norte del País, a quienes se les ofreció diagnóstico clínico de la enfermedad.

Fueron un total de 71 Pacientes los que acudieron a la consulta en el periodo Establecido, (tabla 1) Las características clínicas y detalles demográficos de cada uno de los pacientes fueron obtenidos mediante entrevista personal, revisión de cuestionario y evaluación clínica, siendo este estudio aprobado por comité de ética de dicho hospital.

En base a los datos obtenidos mediante la historia clínica y la exploración física completa de los 71 pacientes se seleccionaron, para este estudio, sólo aquellos pacientes con patrón en placas (n= 59), en los cuales se corroboró el diagnóstico por medio de biopsia y estudio histopatológico.

En este grupo no se incluyeron aquellos pacientes familiares de otros ya incluidos en el estudio, con la finalidad de no sobreestimar los datos estadísticos obtenidos.

Se extrajo sangre de 59 pacientes con AA en placas y 103 sujetos controles sin AA de la población del Noreste de México, posteriormente se extrajo el ADN por el método del fenol-cloroformo y se empleó la técnica de PCR-RFLP para determinar el polimorfismo TNF α -308G/A y FOXD3 -639 G>T y la técnica PCR en tiempo real para determinar el polimorfismo en el gen AIRE 691 C>G.

Resultados de análisis demográficos

Alopecia Areata en placas

Se incluyeron en el estudio un total de 24 mujeres y 35 hombres (grafica 1), con una edad media de 30.49 ± 15.508 años, con una mediana de 32 años y un rango de 70 años (min=3, max=73) (grafica 2).

La edad media de inicio de la AA fue de 26.47 ± 16.633 años, con un rango de 72 años (min=1, max=73).

Las enfermedades más frecuentemente asociadas fueron los trastornos por ansiedad en 13 (22%), siguiendo en frecuencia enfermedades de la piel, hipertensión arterial, depresión, diabetes y alergias a medicamentos (tabla 2).

Los antecedentes familiares más frecuentemente encontrados fueron:

Diabetes Mellitus tipo 2 en 36 pacientes (61%), posteriormente se encontraron la hipertensión arterial, alopecia areata, cáncer no especificado y otras enfermedades de la piel (tabla 3).

Resultados de Análisis moleculares

TNF α .- Para el análisis de TNF α se determinaron las secuencias genotípicas y alélicas de 162 sujetos, divididos en dos grupos, clasificados por la presencia (pacientes, n = 59) o ausencia (sujetos de control, n = 103) de AA en placas. Se detectaron 9 casos y 5 controles con el alelo polimórfico (TNF2), pero solo en la distribución genotípica heterocigota (TNF1/TNF2) (tabla 5).

AIRE.- Para el análisis de AIRE se determinaron las secuencias genotípicas y alélicas de 162 sujetos, divididos en dos grupos, clasificados por la presencia (pacientes, n = 59) o ausencia (sujetos de control, n = 103) de AA en placas. Se detectaron 10 casos y 17 controles con el alelo polimórfico (AIREG), en la distribución genotípica heterocigota (AIRE 691C/ AIRE 691G) y un caso en la forma homocigota (AIRE 691G/ AIRE 691G) (tabla 7 y 8).

FOXD3.- Las secuencias polimórficas no se detectaron en el total de los casos y controles analizados.

CAPITULO VII

7.DISCUSIÓN

TNF α .- En el presente estudio, la distribución de los genotipos TNF- α difieren significativamente entre los grupos de controles y pacientes con Alopecia Areata.

Para evaluar si la población en estudio se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg, nuestras observaciones se analizaron mediante una prueba de bondad de ajuste. El valor para χ^2 fue de 0.063 (valor de $p = 0.8$, con un grado de libertad), indicando un equilibrio adecuado entre las frecuencias de los genotipos en nuestra población, estos valores nos indican que la frecuencia de los genotipos en la población se encuentra en equilibrio, sin embargo al no identificarse individuos con el genotipo TNF2/ TNF2 el resultado no es sustentable.

En la búsqueda de factores de riesgo para el desarrollo de alopecia se observó en los pacientes, que aquellos individuos con genotipo TNF1/TNF.2 tienen 3.53 veces mayor riesgo a desarrollar la patología ($p= 0.023$). Por otra parte a partir de estos resultados se puede sugerir que el genotipo TNF1/TNF1 pudiera ser considerado un factor de protección ante el desarrollo de la enfermedad (OR = 0.26) (tabla 6).Un resultado similar es obtenido, en cuanto a frecuencia se refiere, al realizar un análisis de χ^2 no paramétrico.

No hubo resultados significativos al comparar los genotipos, género, edad de

inicio y número de placas de los pacientes y controles.

AIRE.- No hubo diferencia estadística significativa en las cifras obtenidas para conferir un mayor riesgo a desarrollar la patología.

FOXD3.- No se observó polimorfismo en la población estudiada, no encontrando una relación con el desarrollo de la enfermedad.

CAPITULO VIII

8.-CONCLUSIÓN

Los datos obtenidos sugieren una posible asociación entre la presencia del polimorfismo TNFa -308G/A y una mayor susceptibilidad al desarrollo de AA en placas, probablemente originado por una sobreproducción de TNF α que favorecería la destrucción del folículo piloso.

No se encontró asociación entre la presencia del polimorfismo AIRE C/G y alopecia areata.

CAPITULO IX

9.ANEXOS

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA GENES Y POLIMORFISMOS ASOCIADOS A LA ALOPECIA AREATA

Esta forma de consentimiento pudiera contener palabras que usted no comprenda. Por favor pida al doctor del estudio o a uno de los integrantes del personal del estudio que le expliquen cualquier palabra que usted no conozca, o cualquier información que no sea clara o que sea confusa.

INVESTIGADOR (DOCTOR DEL ESTUDIO): Dra. Cristina Susana Cantú Salinas

DIRECCIÓN DEL(OS) CENTRO(S) DE ESTUDIO: Hospital Universitario "Dr. José E. González" Av. Madero y Gonzalitos S/N esq. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño, Col. Mitras Centro, CP 64460, Monterrey, Nuevo León, México.

NÚMERO(S) DE TELÉFONO EN HORAS DE OFICINA Y DESPUÉS DE HORAS HÁBILES: 83-48-14-65

PROPÓSITO DEL PROYECTO

Se le está solicitando su participación en un estudio de investigación sobre genes asociados a la alopecia areata, que predisponen dicho padecimiento. En este estudio deseamos examinar muestras biológicas (sangre y piel) en personas que presentan alopecia areata en sus distintos tipos.

OBJETIVO

El objetivo de esta forma de consentimiento es darle información para que usted pueda decidir si quiere proporcionar información de su padecimiento así como también muestras biológicas adicionales para la investigación de los genes que se encuentran asociados a la alopecia areata y para otras investigaciones relacionadas a este padecimiento. El doctor del estudio colectará la muestra y la información, con la finalidad de generar un Banco de Muestras y Datos, mantenidos bajo estricta confidencialidad conjuntamente en el Departamento de Dermatología y el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UANL.

OBJETIVOS

El objetivo principal es estudiar los factores genéticos asociados a alopecia areata así como valorar las características clínicas observadas en pacientes con alopecia areata y a la par su respuesta al tratamiento.

El segundo objetivo es identificar marcadores que permitan predecir e influir en un tratamiento óptimo.

ANTECEDENTES

La alopecia areata es la pérdida del cabello repentina por lo general en sectores que deja aéreas alopecias lisas principalmente en piel cabelluda. Puede aparecer en cejas, barba o cualquier otro sitio piloso o afectar uñas; casi siempre es reversible.

Afecta a cualquier raza y a ambos sexos por igual. Se estima que se presenta un caso por cada 1,000 habitantes, sobreviene a cualquier edad y predomina entre los 20 y 40 años.

Se desconoce la causa específica de este padecimiento, sin embargo se ha asociado a procesos autoinmunes e infecciosos (virales), componentes genéticos y trastornos neuropsiquiátricos (en especial estrés y angustia).

Según el aspecto se distinguen varias formas clínicas: Clásica de placas múltiples, Ofiasis de Celso que afecta el borde de la piel cabelluda, Pelada decalvante que se inicia en sectores, se extiende con rapidez y solo respeta pequeños mechones; la alopecia total que implica la pérdida completa de todo el cuero cabelludo y la forma universal la cual se caracteriza por la pérdida total del vello en todo el cuerpo.

Afecta preferentemente la piel cabelluda, pero puede presentarse en cejas, pestañas, barba o cualquier área pilosa corporal y se presenta como una placa alopécica redonda de diferente tamaño (de 1 a 3cm o mas); se presentan una o varias placas aisladas o que tienden a confluir (juntarse); la piel se torna lisa y acolchonada, los pelos no afectados son formales. La evolución es crónica y asintomática variable e impredecible en general hay recuperación pero puede haber recidiva y en el 10 a 30% de los enfermos no hay recuperación.

Ningún tratamiento es el ideal se han empleado esteroides tópicos o intralesionales, tratamiento con PUVA o sensibilización con dinitroclorobenceno, sin embargo el tratamiento no funciona de manera exitosa en todos los pacientes.

Nosotros pretendemos estudiar, con base a la literatura encontrada, los genes asociados a la alopecia areata y si estos influyen en el fracaso o retraso terapéutico que se ha observado en diversos pacientes tratados en este hospital. Eventualmente los hallazgos de esta investigación pudieran conducir al desarrollo en un nuevo tratamiento ya sea terapéutico o preventivo, personalizado y enfocado al problema de base que presenta el paciente. Para lograr esto, nosotros estudiaremos tejido dérmico, sangre, genes y proteínas que están presentes en niveles alterados (altos o bajos) en la alopecia areata.

Las células en el cuerpo humano, como las provenientes de tejido dérmico y sangre, contienen genes compuestos de ácido desoxirribonucleico (ADN), y proteínas, compuestos que median la función de un gen. Éstas últimas también están presentes en los fluidos corporales, ya sea sangre, orina y saliva, entre otros.

Los genes contienen instrucciones clave para la función celular y ayudan a determinar las características de cada individuo. Por otra parte es importante comprender la función de las proteínas, ya que esto es fundamental para conocer el origen de un mal funcionamiento del organismo, pues si una proteína está mal, o se encuentra en niveles alterados, la función que ella desarrolla también lo puede estar. Por lo tanto, esta investigación utilizará las muestras biológicas (ácidos nucleicos y proteínas) de los individuos participantes para hacer lo siguiente:

- Estudiar las causas de la alopecia areata (y de manera detallada si existe alteración genética)
- Ayudar a entender la diferente respuesta de diferentes individuos a las terapias y medicamentos.
- Obtener información para ayudar a desarrollar nuevos métodos para diagnosticar y tratar la enfermedad.

PROCEDIMIENTO

Si usted acepta participar en este proyecto de investigación, no se afectará de manera absoluta el tratamiento médico que se le recomiende o su elección de médico para realizar el tratamiento. Nosotros obtendremos de usted la siguiente información y las siguientes muestras biológicas:

Información Demográfica: Se le solicitará la siguiente información: fecha de nacimiento, historia familiar de alopecia u otras enfermedades, se le preguntará si ha estado sometido a situaciones estresantes o si ha sufrido algún trastorno psicológico. Se le solicitará que complete un cuestionario que se llenará en un tiempo de 30 a 45 minutos.

Información sobre la enfermedad: Revisaremos su expediente clínico para obtener información sobre el tipo de alopecia que lo afecta y todos los exámenes de laboratorio que se le hayan realizado.

Muestras Biológicas: El personal del estudio extraerá una muestra de sangre de una vena del brazo que será recolectada en dos tubos (aproximadamente 5 a 10 ml en cada tubo). Esta muestra es adicional a cualquiera de las muestras de sangre que se le extraigan para los fines de su atención médica o para el ensayo clínico principal.

Se le tomará una muestra de piel cabelluda de no más de 1cm de diámetro. Esta muestra será almacenada en el Banco de Muestras y Datos. Los tejidos estarán disponibles para futuros estudios en los que se valorara nuevos o alternativos tratamientos así como también el pronóstico de la alopecia areata.

RIESGO/BENEFICIO

Usted puede sentir algunas inconveniencias razonables en el sitio de la punción donde se extrajo la sangre o en el lugar donde se tomo la biopsia y algunos otros riesgos si decide participar en estos estudios. La introducción de una aguja en la vena para la obtención de sangre puede producir molestias. Puede haber una lesión pequeña y existe una posibilidad mínima de infección o un hematoma en el sitio de la punción. Usted puede sentir mareo o desvanecimiento durante la toma de la muestra de sangre.

Ninguno de los exámenes generará un beneficio directo e inmediato para usted, pero estos pueden ayudarnos a conseguir otras nuevas formas para identificar, prevenir y tratar la alopecia areata en otros pacientes con la misma enfermedad que lo afecta y así usted contribuir a conocer e identificar causas más específicas y nuevas opciones de prevención y tratamiento.

Existe el riesgo remoto de que la información de su registro de investigación pueda afectar aplicaciones para seguro de vida, y para trabajo, tanto personales como de otros miembros de su familia. Por estas razones, cualquier información personal que nos suministre será mantenida con la máxima privacidad.

OPCIONES

Usted puede decidir no participar en este estudio.

Su participación en esta investigación es voluntaria. Si decidiera que no quiere participar en la investigación, esto **NO AFECTARÁ** de manera absoluta su participación y tratamiento en el protocolo clínico principal de alopecia areata

CONFIDENCIALIDAD

Cualquier cosa que sepamos sobre usted en este estudio se mantendrá de manera estrictamente confidencial. Si publicamos los resultados del estudio en un artículo de una revista médica o en un libro, nosotros no lo identificaremos a usted de ninguna manera. Tomaremos las medidas necesarias para mantener toda su información en privado.

ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Los investigadores estamos solicitándole permiso para almacenar sus muestras biológicas, las cuales serán utilizadas en estudios de investigación científica asociados a la enfermedad. Sus muestras estarán marcadas con una etiqueta de identificación única (código). Esta identificación no permitirá reconocer que usted fue el donador de la muestra. Los bancos serán mantenidos conjuntamente en el Departamento de Dermatología y el Departamento de Bioquímica en la Facultad de Medicina de la UANL. Los responsables de los bancos son el Dr. Jorge de Jesús Ocampo Candiani y la Dra. Rocío Ortiz López en la UANL. Los investigadores ajenos a este proyecto que soliciten porciones de tejido del banco requerirán una aprobación de los dos supervisores de los Bancos de Muestras y Datos (Dr. Jorge de Jesús Ocampo Candiani y la Dra. Rocío Ortiz López) y deberán justificar su solicitud en un protocolo de investigación que esté aprobado por el comité institucional de revisión de protocolos (IRB) o por el comité de ética médica de la institución de afiliación del investigador. Es probable que miembros de este tipo de comités busquen la aprobación de los investigadores para ponerse en contacto con usted.

Algunos de los estudios de investigación podrán incluir análisis genéticos de sus muestras. Debido a que el almacenamiento de tejidos y otras muestras biológicas para futuras pruebas genéticas aun está en desarrollo, los riesgos de las pruebas genéticas aun son desconocidos. Con el uso de la nueva tecnología, la información de la estructura de su DNA (información genética) puede ser utilizada para determinar el riesgo de sufrir ciertas enfermedades. Esta información genética es única y podría indicar cambios en su estado de salud futura o en su expectativa de vida o la de sus hijos y familiares. Algunos descubrimientos pueden generar inquietud y causar dificultades psicológicas o problemas familiares. **NOSOTROS HAREMOS TODOS LOS ESFUERZOS POSIBLES PARA PROTEGER SU PRIVACIDAD.** Los datos estarán almacenados en un banco de datos protegido con clave de acceso secreta. Las computadoras se alojarán en la misma sala donde se almacenen las muestras. Todos los papeles y formas asociadas con las muestras estarán almacenados en archiveros con llave y el acceso a la sala donde están las muestras y los archiveros estarán restringidos exclusivamente al personal que labore en esa

área. La política del encargado del Banco de Muestras y Datos es la de entregar tejidos identificados con el número de código a los investigadores que soliciten muestras, ya sea en la misma muestra o en una forma adjunta (su nombre y su identificación no serán revelados ni informados en las muestras). La información clínica pertinente a la muestra como la edad, la raza y el diagnóstico solo estarán disponibles de una manera codificada.

También es posible que se utilice información clínica de las muestras, a la cual se le eliminará la identificación personal. En la práctica esto significa que los investigadores que utilicen la información clínica no tendrán acceso a datos personales como nombre, números de identificación relacionados con el hospital (número de expediente), dirección y números de teléfono. Los investigadores podrán recibir información clínica como la edad, presencia o ausencia de la enfermedad u otro tipo de información relevante a la muestra, pero no recibirán información sobre la identidad de la persona.

Además, es nuestra política no permitir que personas ajenas al grupo de investigación contacte a los pacientes que donaron las muestras por ninguna razón. Si este contacto es requerido, se le solicitará al Comité de Ética Médica que evalúe esa solicitud y el contacto solo se hará a través de su médico, después de haber recibido la aprobación del Comité de Ética Médica.

No se le notificará el momento en que se realice investigaciones adicionales, y no se obtendrá consentimiento informado adicional de usted. La investigación adicional estará limitada por la información original de salud que sea colectada en la forma de reporte de caso durante el ensayo clínico principal y que haya sido discutida en este consentimiento informado.

Costos:

No se le cobrará por ninguno de los análisis requeridos ni por los procedimientos realizados durante su participación en este protocolo. La visita a la clínica y la extracción de muestras biológicas asociadas con la conducción de esta enmienda se proporcionan sin costo si usted participa.

Nuevos hallazgos:

Se le proporcionarán todos los nuevos hallazgos, descubiertos durante el curso de este estudio de investigación, que pudieran cambiar su decisión de participar en este protocolo cuando estén disponibles.

Retiro del consentimiento y destrucción de las muestras:

Usted podría retirar este consentimiento y terminar su participación en la investigación de **GENES Y POLIMORFISMOS ASOCIADOS A LA ALOPECIA AREATA Y SU RELACION AL FRACASO O RETRASO EN EL TRATAMIENTO** arriba descrita sin afectar su participación en el ensayo clínico principal.

Para retirar su consentimiento, usted debe contactar al doctor del estudio al número telefónico indicado en la primera página del formato, ya que sólo él/ella tiene acceso a toda su información que le identifica. El doctor del estudio conservará los registros que vinculan la información que le identifica (por ejemplo, su nombre y la información de contacto) con su muestra codificada de sangre y la información de salud, durante el período de tiempo requerido por la ley aplicable. Si usted retirara su consentimiento para la investigación de Alopecia Areata durante este tiempo, usted podría solicitar que su muestra de sangre, tejido y el ADN obtenido con su muestra de sangre sean destruidos y que ya no se usen en y otras investigaciones relacionadas. El grupo de investigación tendrá el derecho de conservar y usar cualquiera de los resultados de la investigación que obtengamos antes del retiro de su consentimiento.

Preguntas/ Información: Si tuviera alguna pregunta respecto a esta colección de muestra o a la investigación de farmacogenética o si sufriera alguna lesión causada por el procedimiento de colección de la muestra, usted deberá contactar al médico responsable del proyecto en el número telefónico indicado en la primera página.

Si tuviera alguna pregunta acerca de sus derechos como sujeto del estudio, deberá contactar a

REPRESENTANTE DEL COMITE: Dr. José Gerardo Garza Leal (Secretario de Investigación del Área Clínica / Presidente del Comité de Ética)

CENTRO / HOSPITAL DEL ESTUDIO: Subdirección de Investigación- Planta Baja de la Biblioteca de la Facultad de Medicina del Hospital Universitario “Dr. José E. González”

NÚMERO(S) DE TELÉFONO: 83-29-40-50 Extensión 2870 a la 74.

El consejo institucional de revisión o el comité de ética son grupos de médicos y de individuos no médicos que han revisado la información del estudio teniendo en mente la protección del sujeto.

Consentimiento: He leído la información anterior que describe la colección de las muestras biológicas y todas mis preguntas referentes a la colección de mi muestra y a la información médica/de salud para la investigación relacionada han sido respondidas a mi satisfacción. Acepto proporcionar muestras biológicas y permitir que mi información de salud se use y se divulgue para la investigación de **IDENTIFICACION DE GENES ASOCIADOS A**

LA ALOPECIA AREATA Y SU RELACION AL FRACASO O RETRASO EN EL TRATAMIENTO. Entiendo que recibiré una copia firmada de esta forma de consentimiento.

ENTIENDO QUE ESTOY EN MI DERECHO DE SOLICITAR CUALQUIER ACLARACIÓN Y OBTENER INFORMACIÓN SOBRE LA INVESTIGACIÓN QUE SOLICITE EN CUALQUIER MOMENTO DEL DESARROLLO DE LA MISMA. ADEMÁS, ENTIENDO QUE ESTOY EN LA LIBERTAD DE RETIRARME EN EL MOMENTO QUE DESEE Y SI TOMO ESTA DECISIÓN NO ME AFECTARÁ EN FUTUROS TRATAMIENTOS QUE REQUIERA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO.

ENTIENDO QUE LA INFORMACIÓN OBTENIDA DE LA INVESTIGACIÓN SERÁ MANEJADA EN FORMA CONFIDENCIAL Y QUE EN NINGUN MOMENTO SE VIOLARÁ MI PRIVACIDAD.

ADEMÁS, EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA U.A.N.L., ESTARÁ EN LA DISPOSICIÓN DE BRINDARME TRATAMIENTO MÉDICO O QUIRÚRGICO SIN COSTO, EN CASO DE QUE RESULTARA DAÑADO DIRECTAMENTE POR CUALQUIERA DE LOS PROCEDIMIENTOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, Y EN CASO DE DAÑO PERMANENTE, TENDRÉ DERECHO A SER INDEMNIZADO DE ACUERDO AL DAÑO SUFRIDO.

SU FIRMA INDICA QUE USTED HA DECIDIDO TOMAR PARTE EN ESTE PROYECTO Y QUE HA LEIDO Y ENTENDIDO LA INFORMACIÓN PROPORCIONADA Y EXPLICADA PERSONALMENTE.

NOMBRE DEL SUJETO

FECHA

FIRMA DEL SUJETO

Si aplica.

NOMBRE DEL REPRESENTANTE LEGAL

FECHA

FIRMA DEL REPRESENTANTE LEGAL

NOMBRE DEL INVESTIGADOR
(o persona que realiza el proceso de consentimiento)

FECHA

FIRMA DEL INVESTIGADOR
(o persona que realiza el proceso de consentimiento)

Departamento de Dermatología
Hospital Universitario Dr. José Eleuterio Gzz

Cuestionario de Alopecia Areata (AA)

Datos Personales:

Fecha: _____

Apellidos: _____

Nombre (s): _____

Fecha de Nacimiento: _____

Femenina Masculino

Dirección: _____

Teléfono: _____

E-mail: _____

Alopecia Areata:

Cuantos episodios de Alopecia Areata ha tenido número: _____

Episodios que hayan durado menos de 2 años número: _____

Episodios que hayan durado más de 2 años número: _____

Episodio Actual de Alopecia Areata

Cuando Comenzó?:

Se presento antes una infección?	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Tuvo usted inflamación de ganglios cervicales?	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Presento un crecimiento espontaneo de cabello?	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Presento la misma coloración de cabello?	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>

Ubicacion de la perdida de cabello?

Region Occipital	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
------------------	-----------------------------	-----------------------------

Perdida Irregular de cabello (Alopecia reticularis)	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
---	-----------------------------	-----------------------------

Todo el cuero cabelludo (Alopecia totalis)	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
--	-----------------------------	-----------------------------

Todo el cuerpo(Alopecia universalis)	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
--------------------------------------	-----------------------------	-----------------------------

Cejas	si <input type="checkbox"/> : der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
-------	---	-------------------------------	-----------------------------

Pestañas	si <input type="checkbox"/> : der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
----------	---	-------------------------------	-----------------------------

Vello axilar	si <input type="checkbox"/> : der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
--------------	---	-------------------------------	-----------------------------

Vello pubico	si <input type="checkbox"/> : der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
--------------	---	-------------------------------	-----------------------------

Brazos	si <input type="checkbox"/>	der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
piernas	si <input type="checkbox"/>	der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Otras regiones afectadas	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>	_____	

Perdida de vello corporal sin ningún tipo de pérdida de cabello del cuero cabelludo

	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>		
Cejas	si <input type="checkbox"/>	der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Pestañas	si <input type="checkbox"/>	der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Vello axilar	si <input type="checkbox"/>	der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Vello pubico	si <input type="checkbox"/>	der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Brazos	si <input type="checkbox"/>	der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Piernas	si <input type="checkbox"/>	der. <input type="checkbox"/>	izq. <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Otras regiones afectadas	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>	_____	

Ha tenido un episodio severo de alopecia?

Cuando Comenzo : _____

Existio una infeccion anterior?	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Presento inflamacion de ganglios cervicales?	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Presento un crecimiento espontaneo de cabello?	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Presento la misma coloracion de cabello?	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>

Ubicación de la perdida de cabello

Región Occipital	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>
Perdida Irregular de cabello (Alopecia reticularis)	si <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>

Todo el cuero cabelludo (Alopecia totalis) si no

Todo el cuerpo (Alopecia universalis) si * no

Cejas si : der. izq. no

Pestañas si : der. izq. no

Vello axilar si : der. izq. no

Vello pubico si : der. izq. no

Brazos si : der. izq. no

Piernas si : der izq. no

Otras regiones afectadas si no _____

Perdida de vello corporal sin ningún tipo de pérdida de cabello del cuero cabelludo si no

Cejas si : der. izq. no

Pestañas si : der. izq. no

Vello axilar si : der. izq. no

Vello pubico si : der. izq. no

Brazos si : der. izq. no

Piernas si : der izq. no

Otras regiones afectadas si no _____

Terapia:

Terapia Se presento regeneración de cabello

Esteroides tópicos si no si no

Esteroides Intralesionales si no si no

Corticoesteroides sistémicos si no si no

PUVA si no si no

Difenilcicloprofenon/DCP si no si no

Zinc si no si no

Tacrolimus	si <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	si <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>
Dapsona	si <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	si <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>
Minoxidil	si <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	si <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>
Otros	si <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	si <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>

Usted o algún miembro de su familia tiene una de las siguientes enfermedades?

	personal	Afeccion familiar:
Vitiligo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tiroiditis autoinmune	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diabetes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dermatitis Atópica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Asma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fiebre de Heno	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hipertension	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Enfermedad inflamatoria intestinal:		
Enfermedad de Crohn	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ulcerous colitis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Otras (inmunes) enfermedades: _____

Presenta alteraciones en sus uñas?

Si No

Si la respuesta es afirmativa:

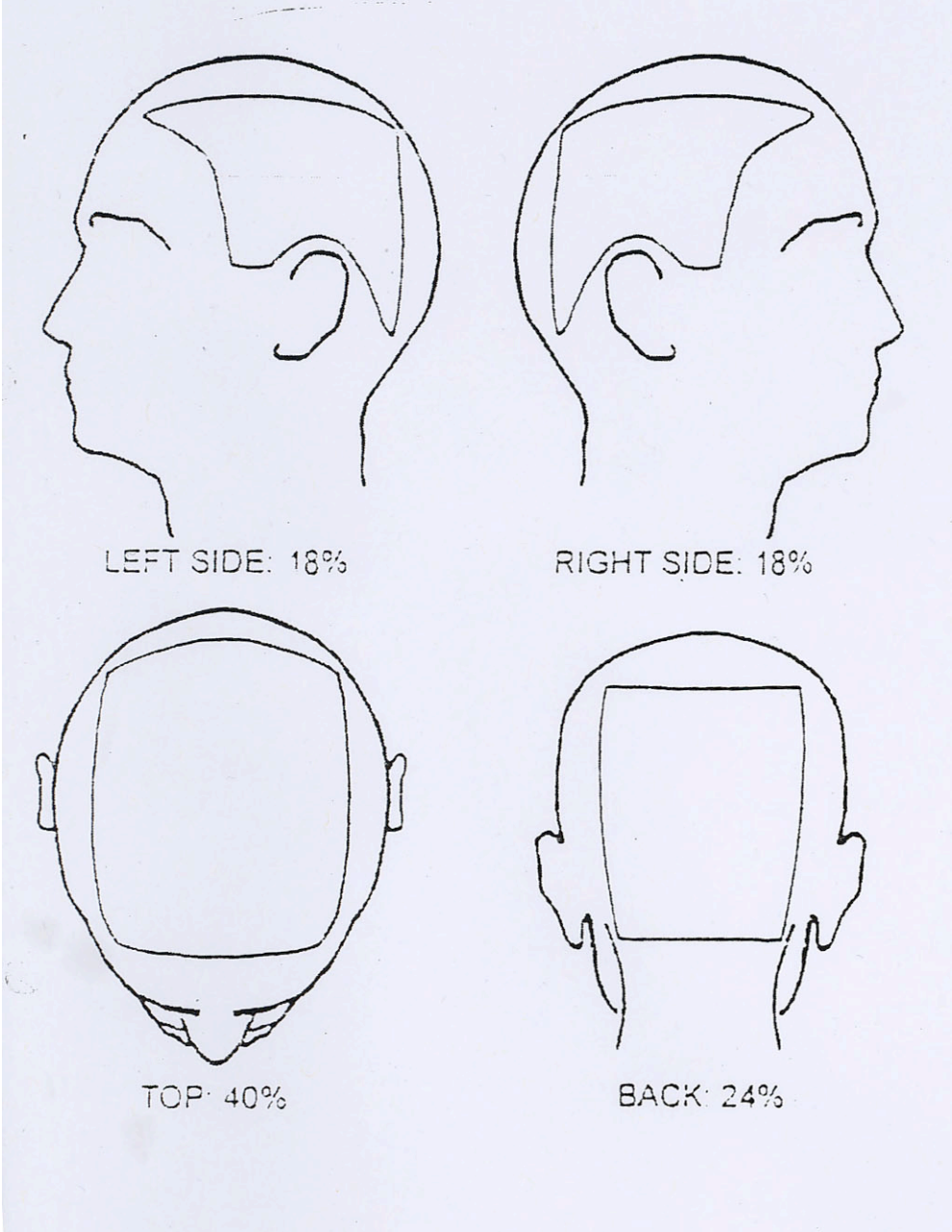
Uñas de los pies
_Der. Izq.

Uñas de las manos
Der. Izq.

Estrias transversales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Estrias longitudinales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Unas Delgadas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Picadas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Leuconikia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Onicomadesis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Otras personas de tu familia están afectadas por Alopecia Areata?

	si	no	no se
Madre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Padre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hermano	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hermana	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Abuelo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Abuela	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hijo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hija	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Otros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Que parentesco tiene con Ud? _____
	si	no	
Parientes de primer grado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Parientes de segundo grado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	



CAPITULO X

10. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Muller SA, Winkelmann RK. Alopecia areata: an evaluation of 736 patients. Arch Dermatol 1963;88:290-97
- 2.- Shellow WV, Edwards JE, Koo JY. Profile of alopecia areata: a questionnaire analysis of patient and family. Int J Dermatol 1992;31:186-9.
- 3.- The genetic epidemiology of alopecia areata in China. Yang S, Yang J, Liu JB, Wang HY, Yang Q, Gao M, Liang YH, Lin GS, Lin D, Hu XL, Fan L, Zhang XJ. Br J Dermatol. 2004 Jul;151(1):16-23.
- 4.- D.Araucaria Guzman-Sanchez MD, GD Villanueva Quintero, MD N. Alfaro Alfaro, MD, A. Mc Michel, MD Wilson-Salem, North Carolina and Guadalajara Jalisco. A Clinical study of alopecia Areata in Mexico . International Journal of Dermatology 2007, 46 pag 1308-1310.
- 5.- Muller SA, Winkelmann RK. Alopecia areata. An evaluation of 736 patients. Arch Dermatol . Sep 1963;88:290-7.
- 6.- Safavi KH. Prevalence of alopecia areata in the First National Health and Nutrition Examination Survey. Arch Dermatol. 1992; 128:702.
- 7.- Sharma VK, Dawn G, Kumar B. Profile of alopecia Areata in northern India. Int J Dermatol 1996; 35: 22-27.
- 8.- D. Wasserman, D.A. Guzman-Sanchez, K. Scott, A. Mc Michael, Alopecia areata. Int J Dermatol, 46 (2007), pp. 121–131
- 9.- Madani S, Shapiro J. Alopecia areata update. J Am Acad Dermatol 2000;42:549-66.
- 10.- Shapiro J, Madani S. Alopecia areata: diagnosis and management. Int J Dermatol 1999;38 (suppl 1):19-24.
- 11.-Price VH. Therapy of alopecia areata: on the cusp and in the future. J Investig Dermatol Symp Proc 2003;8:207-11.
- 12.-Vogt A, McElwee KJ, Blume-Peytavi U. Biology of the hair follicle, In: Whiting DA, Blumw-Peytavi U, Tosti A, editors. Hair growth and disorders. Berlin: Springer; 2008. 1-22
- 13.-McElwee KJ, Sinclair R. Hair physiology and its disorders. Drug Discover

Today: Disease Mechanisms 2008;5: 66-71

14.-Freyschmidt-Paul P, McElwee KJ, Hoffmann R. Alopecia areata: Whiting DA, Blume-Peytavi U, Tosti A, editors. Hair growth and disorders. Berlin: Springer; 2008. 311-32

15.- Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia areata update: part I. Clinical picture, histopathology, and pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. 2010 Feb;62(2):177-88, quiz 189-90

16.- Kalish RS, Johnson KL, Hordinsky MK. Autoreactive T-cells are variably enriched relative to peripheral blood in the scalp lesions of alopecia areata. *Arch Dermatol*. 1992; 128:1072-7.

17.- Puavilai S, Puavilai G, Charuwichitratana S, Sakuntabhai A, Sriprachya-Anunt S. Prevalence of thyroid diseases in patients with alopecia areata. *Int J Dermatol* . Sep 1994;33(9):632-3.

18.- Van der Steen P, Traupe H, Happle R, Boezeman J, Sträter R, Hamm H. The genetic risk for alopecia areata in first degree relatives of severely affected patients. An estimate. *Acta Derm Venereol* . Sep 1992;72(5):373-5.

19.-Werth VP, White WL, Sanchez MR, Franks AG. Incidence of alopecia areata in lupus erythematosus. *Arch Dermatol* . Mar 1992;128(3):368-71.

20.- Gilhar A, Landau M, Assy B, et al. Melanocyte associated T cell epitopes can function as autoantigens for transfer of alopecia areata to human scalp explants on PrKdc mice. *J Invest Dermatol*. 2001; 117: 1357-62.

21.- Aita VM, Christiano AM. The genetics of alopecia areata. *Dermatol Ther*. 2001; 14:329-39.

22.- Jackow C, Puffer N, Hordinsky M. et al. Alopecia areata and infection in twins: gene versus environment? *J Am Acad Dermatol*. 1998; 38: 415-18.

23.- Colombe BW, Price VH, Khoury EL. HLA class II antigen associations help to define two types of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 1995;33:757-64.

24.-So A. Genetics, polymorphism and regulation of expression of HLA region genes. In: Lechler R, editor. HLA and disease. San Diego (CA): Academic Press; 1994. p. 1.

25.-Price VH, Colombe BW. Heritable factors distinguish two types of alopecia

areata. *Dermatol Clin* 1996;14:679-89.

26.- Anderson, M.S. et al. (2002) Projection of an Immunological Self-Shadow Within the Thymus by the Aire Protein. *Science* 298 (5597), 1395-1401.

27.- Liston, A. et al. (2003) Aire regulates negative selection of organ-specific T cells. *Nat Immunol* 4 (4), 350-354.

28.-Anderson MS, Venanzi ES, Klein L, Chen Z, Berzins SP, Turley SJ, von Boehmer H, Bronson R, Dierich A, Benoist C, Mathis D (2002). «Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein». *Science* 298 (5597): pp. 1395–401

29.- Zuklys S, Balciunaite G, Agarwal A, Fasler-Kan E, Palmer E, Hollander GA. Normal thymic architecture and negative selection are associated with Aire expression, the gene defective in the autoimmune-polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED). *J Immunol* 2000;165:1976–83.

30.- Ramsey C, Winqvist O, Puhakka L et al. Aire deficient mice develop multiple features of APECED phenotype and show altered immune response. *Hum Mol Genet* 2002;11:397–409.

31.- S.M.Collins, M.Dominguez, T. Ilmarinen, C. Costigan and A.D. Irvine. Dermatological manifestations of autoimmune polyendocrinopathy–candidiasis–ectodermal dystrophy syndrome. *British Journal of Dermatology* 2006 154, pp1088–1093.

32.- R Tazi-Ahnini, M J Cork, D J Gawkrödger, M P Birch, D Wengraf, A J G McDonagh and A G Messenger. Role of the autoimmune regulator (AIRE) gene in alopecia areata: strong association of a potentially functional AIRE polymorphism with alopecia universalis. *Tissue Antigens* 2002; 60(6):489-95.

33.- S.E. Krishna; I.Majumdar; N.V. Grishin (enero 2003). SURVEY AND SUMMARY: Structural classification of zinc fingers. *Nucleic Acids Res.* 31: pp. 532-550.

34.- Pforr J, Blaumeiser B, Becker T, Freudenberg-Hua Y, Hanneken S, Eigelshoven S, Cuyt I, De Weert J, Lambert J, Kruse R, Nöthen MM, Betz RC. Investigation of the p.Ser278Arg polymorphism of the autoimmune regulator (AIRE) gene in alopecia areata. *Tissue Antigens* 2006 Jul; 68(1): 58-61.

- 35.- Messer G. ; Spengler U. ; Jung M. C. ; Honold G. ; Bloemer K. ; Pape G. R. ; Riethmüller G. ; Weiss E. H. Polymorphic structure of the tumor necrosis factor (TNF) locus: an NcoI polymorphism in the first intron of the human TNF-beta gene correlates with a variant amino acid in position 26 and a reduced level of TNF- beta production. *The Journal of experimental medicine* 1991,. 173(1): 209-219.
- 36.- Gillian M. P. Galbraith and Janardan P. Pandey. Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) gene polymorphism in alopecia Areata. *Hum Genet* 1995, 96: 433-436.
- 37.- A.C. Schueller, A. Heep, E. Kattner, M. Kroll, M. Wisbauer, J. Sander, P. Bartmann, F. Stuber Prevalence of Two Tumor Necrosis Factor Gene Polymorphisms in Premature Infants with Early Onset Sepsis *Biol Neonate* 2006;90:229-232.
- 38.-Spies T., Morton C. C. ; Nedospasov S. A. ; Fiers W. ; Pious D. ; Strominger J. L. Genes for the tumor necrosis factors α and β are linked to the human major histocompatibility complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1986, 83(22): 8699-8702.
- 39.- Rudle NH. Tumor necrosis factor (TNF- α) and lymphotoxin (TNF- β). *Curr Opin Immunol* 1992, 4:327.
- 40.- Elliot MJ, Feldmann M, Maini RN. TNF alpha blockade in rheumatoid arthritis: rationale, clinical outcomes and mechanisms of action. *International Journal of Immunopharmacology* 1995, 17(2): 141-145.
- 41.- M. Liz-Graña, J. J. Gómez-Reino Carnota. Tumour Necrosis Factor. Genetics, cell action mechanism and involvement in inflammation. *Alergol Inmunol Clin* 2001, 16:140-149.
- 42.- Aringer M and Smolen JS. The role of tumor necrosis factor-alpha in systemic lupus erythematosus, *Arthritis Research & Therapy* 2008, 10 (1) 202.
- 43.- E. Louis, S. Vermeire, P. Rutgeerts, M. De Vos, A. Van Gossum, P. Pescatore, R. Fiasse, P. Pelckmans, H. Reynaert, G. D'Haens, M. Malaise, J. Belaiche, A positive response to infliximab in Crohn's disease: association with a higher systemic inflammation before treatment but not with -308 TNF gene polymorphism, *Scand. J. Gastroenterol* 2002, 37: 818-824.

- 44.- K. Badenhoop, G. Schwarz, J. Trowsdale, V. Lewis, K. H. Usadel², E. A. M. Gale and G. F. Bottazzo. TNF- α gene polymorphisms in Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1989, 32(7): 445-448.
- 45.- M.Y. Shiau, C.Y. Wu, C.N. Huang, S.W. Hu, S.J. Lin, Y.H. Chang, TNF-alpha polymorphisms and type 2 diabetes mellitus in Taiwanese patients, *Tissue Antigens* 2003, 6: 393–397.
- 46.- J.Vendrell, J.M. Fernandez-Real, C. Gutierrez, A. Zamora, I. Simon, A. Bardaji, W. Ricart, C. Richart, A polymorphism in the promoter of the tumor necrosis factor alpha gene (-308) is associated with coronary heart disease in type 2 diabetic patients, *Atherosclerosis* 2003, 167: 257–264.
- 47.- C. Seifart, A. Dempfle, A. Plagens, U. Seifart, U. Clostermann, B. Muller, C. Vogelmeier, P. von Wichert, TNF-alpha-, TNF-beta-, IL-6-, and IL-10-promoter polymorphisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease, *Tissue Antigens* 2005, 65: 93–100.
- 48.- M.F. Moffatt, A. James, G. Ryan, A.W. Musk, W.O. Cookson, Extended tumour necrosis factor/HLA-DR haplotypes and asthma in an Australian population sample, *Thorax* 1999, 54: 757–761.
- 49.- J. Ansel, P. Perry, J. Brown, et al., "Cytokine modulation of keratinocyte cytokines," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 94, no. 6, supplement, pp. 101S–107S, 1990.
- 50.- W. Symington, "Lymphotoxin, tumor necrosis factor, and gamma interferon are cytostatic for normal human keratinocytes," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 92, no. 6, pp. 798–805, 1989.
- 51.- Liz-Graña, M and Gómez-Reino Carnota, JJ. Tumor Necrosis Factor. Genetics, cell action mechanism and involvement in inflammation.. *Alergol Inmunol Clin* 2001, 16:140-149.
- 52.- Maqsood M. Elahi, Kamlesh Asotra, Bashir M. Matata , Sarabjit S. Mastana. Tumor necrosis factor alpha -308 gene locus promoter polymorphism: An analysis of association with health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 2009, 1792: 163–172.
- 53.-Philpott M. P., Sanders D. A., Bowen J. , Kealey T. Effects of interleukins, colony-stimulating factor and tumour necrosis factor on human hair follicle growth in vitro : a possible role for interleukin-1 and tumour necrosis factor- α in alopecia areata.; *British journal of dermatology* 1996, 135(6): 942-948.

- 54.- Gillian M. P. Galbraith and Janardan P. Pandey Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene polymorphism in alopecia areata. *Hum Genet* 1995, 96:433-436.
- 55.- Sánchez-Domínguez CN, Buenfil-Lozano JA, Molina-Guajardo CA, Borjas-Almaguer OD, Castillo-Lartigue A, Bustamante-Sáenz A, Martínez-Rodríguez HG, Alarcón MA, Reyes-López MA, Ortiz-López R. Frequency of S and Z alleles for alpha-1-antitrypsin and tumor necrosis factor alpha -308 promoter polymorphism in northeastern Mexico. *Allergy Asthma Proc.* 2008, 29(4):406-10.
- 56.-Hernández-Pacheco G, Flores-Domínguez C, Rodríguez-Pérez JM, Pérez-Hernández N, Fragoso JM, Saul A, Alvarez-León E, Granados J, Reyes PA, Vargas-Alarcón G. Tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism in Mexican patients with rheumatic heart disease. *Journal of Autoimmunity* 2003, 21: 59-63.
- 57.-Yamamoto-Furusho JK, Uscanga LF, Vargas-Alarcón G, Rodríguez-Pérez JM, Zuñiga J, Granados J. Polymorphisms in the promoter region of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) and the HLA-DRB1 locus in Mexican mestizo patients with ulcerative colitis. *Immunol Lett.* 2004;95(1):31-5.
- 58.-Vargas-Alarcón G, Casasola-Vargas J, Rodríguez-Pérez JM, Huerta-Sil G, Pérez-Hernández N, Londoño J, Pacheco-Tena C, Cardiel MH, Granados J, Burgos-Vargas R. Tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphisms in Mexican patients with spondyloarthritis. *Hum Immunol.* 2006 67(10):826-32.
- 59.-Martínez-Ríos MA, Peña-Duque MA, Fragoso JM, Delgadillo-Rodríguez H, Rodríguez-Pérez JM, Miranda-Malpica E, Cruz-Robles D, Cavazos-Quero MM, Rodríguez-Lobato LG, Vargas-Alarcón G. Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin 10 Promoter Polymorphisms in Mexican Patients with Restenosis After Coronary Stenting. *Biochem Genet.* 2009 Jul 8.
- 60.-Sutton J, Costa R, Klug M, et al: Genesis, a winged helix transcriptional repressor with expression restricted to embryonic stem cells. *J Biol Chem* 271: 23126–23133, 1996.
- 61.-Hromas R, Ye H, Spinella M, Dmitrovsky E, Xu D, Costa RH: Genesis, a Winged Helix transcriptional repressor, has embryonic expression limited to the neural crest, and stimulates proliferation in vitro in a neural development model. *Cell Tissue Res* 297:371–382, 1999.

- 62.- Dottori M, Gross MK, Labosky P, Goulding M: The winged-helix transcription factor Foxd3 suppresses interneuron differentiation and promotes neural crest cell fate. *Development* 128:4127–4138, 2001.
- 63.- Asem Alkhateeb, Pamela R Fain and Richard A Spritz. Candidate Functional Promoter Variant in the FOXD3 Melanoblast Developmental Regulator Gene in Autosomal Dominant Vitiligo. *Journal of Investigative Dermatology* 125, 388–391. 2005.
- 64.-Hahn S-K, Nordlund JJ: Vitiligo. Oxford: Blackwell Science, 2000.
- 65.- Alkhateeb A, Fain PR, Thody T, Bennett DC, Spritz RA: Epidemiology of vitiligo and associated autoimmune diseases in Caucasian probands and their families. *Pigment Cell Res* 16:208–214, 2003.
- 66.- Ikhateeb A, Stetler GL, Old W, et al : Mapping of an autoimmunity susceptibility locus (AIS1) to chromosome 1p31.3–p32.2. *Hum Mol Genet* 11:661–667, 2002.
- 67.- de Beker DAR, Messenger AG, Sinclair RD. Disorders of hair. In Burns DA, Breathnach SM, Cox N, Griffiths CE, Editors. *Rook's Textbook of dermatology*. Vol 4. 7th ed Oxford Wiley- Blackwell; 2004 p. 63.1-63.120.
- 68.- Restrepo R, Mckee Ph, Calonje E. Diseases of the hair. In: Mckee Ph, Calonje E, Granter SR, eds. *Pathology of the Skin with Clinical Correlations*. 3th edn. Philadelphia: Elsevier Mosby, 2005: 1073–1079.
- 69.- Loffreda M. Inflammatory diseases of hair follicles, sweat glands and cartilage. In: Elden D, Elantsas R, Bernett J, *et al.* eds. *Lever's Histopathology of the Skin*, 9th edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005: 483–485.
- 70.- Ghersetich I, Campanile G, Loti T. Alopecia areata: immunohistochemistry and ultrastructure of infiltrate and identification of adhesion molecule receptors. *Int J Dermatol* 1996; **35**: 28–33.
- 71.-Todes-Taylor N, Turner R, Wood S, *et al.* T cell subpopulations in alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 1984; **11**: 216–223.
- 72.- Hull SM, Nutbrown M, Pepall L, *et al.* Immunohistologic and ultrastructural comparison of the dermal papilla and hair follicle bulb from “active” and “normal” areas of alopecia areata. *J Invest Dermatol* 1991; **96**: 673 – 681.
- 73.-Igarashi R, Moroashi M, Takeuchi S. Immunofluorescence studies on complement components in the hair follicles of normal scalp and of scalp affected by alopecia areata. *Acta Derm Venerol* 1981; **61**: 131-135.

- 74.- Headington JT. Abstract: the histopathology of alopecia areata. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 69S.
- 75.- Whiting DA. Histopathology of alopecia areata in horizontal sections of scalp biopsies. *J Invest Dermatol* 1995; **104**: 26S–27S.
- 76.- Messenger AG, Bleehen SS, Alopecia areata. Light and electron microscopic pathology of the regrowing white hair. *Br J Dermatol* 1984; **110**: 155 – 162.
- 77.- Madani S, Shapiro J. The scalp biopsy: making it more efficient. *Dermatol Surg*. 1999; 25:537-8.
- 78.- Delamere FM, Sladden MM, Dobbins HM, Leonardi-Bee J. Interventions for alopecia. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;2: CD004413.
- 79.- Garg S, Messenger AG. Alopecia areata: evidence-based treatments. *Semin Cutan Med Surg* 2009;28:15-8.
- 80.- Porter D, Burton JL. A comparison of intra-lesional triamcinolone hexacetonide and triamcinolone acetonide in alopecia areata. *Br J Dermatol* 1971;85:272-3.
- 81.- Charuwichitratana S, Wattanakrai P, Tanrattanakorn S. Randomized double-blind placebo controlled trial in the treatment of alopecia areata with 0.25% desoximetasone cream. *Arch Dermatol* 2000;136:1276-7.
- 82.- Tosti A, Iorizzo M, Botta GL, Milani M. Efficacy and safety of a new clobetasol propionate 0.05% foam in alopecia areata: a randomized, double-blind placebo-controlled trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006;20:1243-7.
- 83.- Wester RC, Maibach HI, Guy RH, Novak E. Minoxidil stimulates cutaneous blood flow in human balding scalps: pharmacodynamics measured by laser Doppler velocimetry and photo-pulse plethysmography. *J Invest Dermatol* 1984;82:515-7.
- 84.- Bunker CB, Dowd PM. Alterations in scalp blood flow after the epicutaneous application of 3% minoxidil and 0.1% hexyl nicotinate in alopecia. *Br J Dermatol* 1987;117:668-9.
- 85.- Fiedler-Weiss VC. Potential mechanisms of minoxidil-induced hair growth in alopecia. *J Am Acad Dermatol* 1987;16:653-6.
- 86.- Olsen EA, Dunlap FE, Funicella T, Koperski JA, Swinehart JM, Tschen EH, et al. A randomized clinical trial of 5% topical minoxidil versus 2% topical minoxidil and placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *J Am*

Acad Dermatol 2002;47:377-85.25.

87.- Olsen EA, Whiting D, Bergfeld W, Miller J, Hordinsky M, Wanser R, et al. A multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of a novel formulation of 5% minoxidil topical foam versus placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *J Am Acad Dermatol* 2007;57:767-74.

88. Lucky AW, Piacquadio DJ, Ditre CM, Dunlap F, Kantor I, Pandya AG, et al. A randomized, placebo-controlled trial of 5% and 2% topical minoxidil solutions in the treatment of female pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol* 2004;50:541-53.

89.- Fiedler-Weiss VC, Buys CM. Evaluation of anthralin in the treatment of alopecia areata. *Arch Dermatol* 1987;123:1491-3.

90.- Tang L, Cao L, Sundberg JP, Lui H, Shapiro J. Restoration of hair growth in mice with an alopecia areata-like disease using topical anthralin. *Exp Dermatol* 2004;13:5-10.

91.- Fiedler VC, Wendrow A, Szpunar GJ, Metzler C, DeVillez RL. Treatment-resistant alopecia areata. Response to combination therapy with minoxidil plus anthralin. *Arch Dermatol* 1990;126:756-9.

92.- Sasmaz S, Arican O. Comparison of azelaic acid and anthralin for the therapy of patchy alopecia areata: a pilot study. *Am J Clin Dermatol* 2005;6:403-6.

93.- Happle R. Antigenic competition as a therapeutic concept for alopecia areata. *Arch Dermatol Res* 1980;267:109-14.

94.- Herbst V, Zoller M, Kissling S, Wenzel E, Stutz N, Freyschmidt-Paul P. Diphenylcyclopropanone treatment of alopecia areata induces apoptosis of perifollicular lymphocytes. *Eur J Dermatol* 2006;16:537-42.

95.- Happle R, Klein HM, Macher E. Topical immunotherapy changes the composition of the peribulbar infiltrate in alopecia areata. *Arch Dermatol Res* 1986;278:214-8.

96.-Changes in distribution pattern of CD8 lymphocytes in the scalp in alopecia areata during treatment with diphenylcyclopropanone. *Arch Dermatol Res* 2007;299:231-37

97.-Gordon PM, Aldrige RD, McVittie E, Hunter JA. Topical diphenylcyclopropanone for alopecia areata: evaluation of 48 cases after 30 months' follow-up. *Br J Dermatol* 1996;134:869-71.

98.-Sotiriadis D, Patsatsi A, Lazaridou E, Kastanis A, Vakirlis E, Chrysomallis F.

Topical immunotherapy with diphenylcyclopropenone in the treatment of chronic extensive alopecia areata. *Clin Exp Dermatol* 2007;32:48-51.

99.-Alam M, Gross EA, Savin RC. Severe urticarial reaction to diphenylcyclopropenone therapy for alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:110-2.

100.-Perret CM, Steijlen PM, Zaun H, Happle R. Erythema multiforme-like eruptions: a rare side effect of topical immunotherapy with diphenylcyclopropenone. *Dermatologica* 1990;180:5-7.

101.-Pan JY, Theng C, Lee J, Goh BK. Vitiligo as an adverse reaction to topical diphenylcyclopropenone. *Ann Acad Med Singapore* 2009;38:276-7.

102.-Henderson CA, Ilchysyn A. Vitiligo complicating diphenylcyclopropenone sensitization therapy for alopecia universalis. *Br J Dermatol* 1995;133:496-7.

103.-Friedli A, Labarthe MP, Engelhardt E, Feldmann R, Salomon D, Saurat JH. Pulse methylprednisolone therapy for severe alopecia areata: an open prospective study of 45 patients. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:597-602.

104.-Kar BR, Handa S, Dogra S, Kumar B. Placebo-controlled oral pulse prednisolone therapy in alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:287-90.

105.-Winter RJ, Kern F, Blizzard RM. Prednisone therapy for alopecia areata. A follow-up report. *Arch Dermatol* 1976; 112:1549-52.

106.-Sharma VK. Pulsed administration of corticosteroids in the treatment of alopecia areata. *Int J Dermatol* 1996;35:133-6.

107.-Burton JL, Shuster S. Large doses of glucocorticoid in the treatment of alopecia areata. *Acta Derm Venereol* 1975;55:493-6.

108.-Sharma VK, Gupta S. Twice weekly 5 mg dexamethasone oral pulse in the treatment of extensive alopecia areata. *J Dermatol* 1999;26:562-5.

109.-Kurosawa M, Nakagawa S, Mizuashi M, Sasaki Y, Kawamura M, Saito M, et al. A comparison of the efficacy, relapse rate and side effects among three modalities of systemic corticosteroid therapy for alopecia areata. *Dermatology* 2006; 212:361-5.

110.-Lester RS, Knowles SR, Shear NH. The risks of systemic corticosteroid use. *Dermatol Clin* 1998;16:277-88.

111.-Taylor CR, Hawk JL. PUVA treatment of alopecia areata partialis, totalis and universalis: audit of 10 years' experience at St John's Institute of Dermatology. *Br J Dermatol* 1995;133:914-8.

112. Mohamed Z, Bhourri A, Jallouli A, Fazaa B, Kamoun MR, Mokhtar I. Alopecia areata treatment with a phototoxic dose of UVA and topical 8-methoxypsoralen. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005;19:552-5.
- 113.-Shapiro J, Lui H, Tron V, Ho V. Systemic cyclosporine and low- dose prednisone in the treatment of chronic severe alopecia areata: a clinical and immunopathologic evaluation. *J Am Acad Dermatol* 1997;36:114-7.
- 114.-Kim BJ, Min SU, Park KY, Choi JW, Park SW, Youn SW, et al. Combination therapy of cyclosporine and methylprednisolone on severe alopecia areata. *J Dermatolog Treat* 2008;19:216-20.
- 115.-Joly P. The use of methotrexate alone or in combination with low doses of oral corticosteroids in the treatment of alopecia totalis or universalis. *J Am Acad Dermatol* 2006;55:632-6.
- 116.-Feldmann KA, Kunte C, Wollenberg A, Wolfe H. Is topical tacrolimus effective in alopecia areata universalis? *Br J Dermatol* 2002;147:1031-2.
- 117.-Park SW, Kim JW, Wang HY. Topical tacrolimus (FK506): treatment failure in four cases of alopecia universalis. *Acta Derm Venereol* 2002;82:387-8.
- 118.-Talpur R, Vu J, Bassett R, Stevens V, Duvic M. Phase I/II randomized bilateral half-head comparison of topical bexarotene 1% gel for alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2009;61:592.e1-9.
- 119.-Ehsani A, Toosi S, Seirafi H, Akhyani M, Hosseini M, Azadi R, et al. Capsaicin vs. clobetasol for the treatment of localized alopecia areata. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009 Mar 5
- 120.-Hordinsky M, Ericson M. Autoimmunity: alopecia areata. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2004;9:73-8.
- 121.- Strober BE, Siu K, Alexis AF, Kim G, Washenik K, Sinha A, et al. Etanercept does not effectively treat moderate to severe alopecia areata: an open-label study. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:1082-4.
- 122.-Price VH, Hordinsky MK, Olsen EA, Roberts JL, Siegfried EC, Rafal ES, et al. Subcutaneous efalizumab is not effective in the treatment of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58:395-402.

CAPITULO XI

11. RESUMEN AUTOBIOGRAFICO



Dra. Cristina Susana Cantú Salinas

Candidata para el Grado de Doctorado en Medicina

Especialidad en Dermatología

Tesis: “Genes y polimorfismos en TNF alfa, AIRE y FOXD3 en pacientes con alopecia areata en el Noreste de México”

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Biografía:

Datos personales y educación: Nací un 18 de Julio de 1983, soy la menor de 5 hermanos,

tengo la fortuna de aún tener a mis padres. Estudié la primaria en la escuela Gra. Ignacio Zaragoza Club de Leones # 10, la secundaria en la escuela Emma Godoy # 72 y posteriormente comencé mis estudios en la Universidad Autonoma de Nuevo León;

inicialmente en la Preparatoria # 15 Madero y después en la Facultad de Medicina de dicha Universidad donde pude desempeñar varias actividades académicas como ser bacaria del departamento de Anatomía Humana y Cirugía General. Realicé mi servicio social en la Jurisdicción 1 en un periodo de un año en un centro de salud de Monterrey donde obtuve excelentes enseñanzas. El 2008 entré a la residencia estando 6 meses en el departamento de Medicina Interna y posteriormente incorporandome al Departamento de Dermatología con un gran entrenamiento de 3 años y medio

Experiencia Profesional: Actualmente me encuentro laborando como Dermatóloga en OCA HOSPITAL

FIGURAS



Figura 1.- Alopecia areata en placas



Figura 2.- Alopecia areata patrón ofiáceo



Figura 3.- Alopecia total



Figura 4.- Alopecia universal

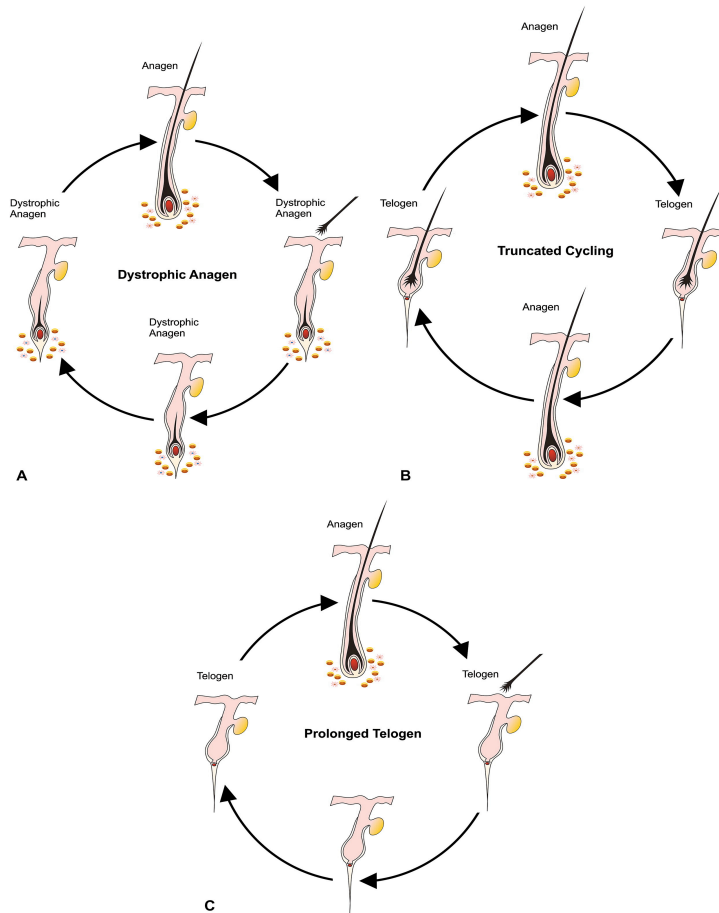


Figura 5.- Patrones del ciclo del crecimiento del pelo en la AA . **A** , Se observa una fase anágena distrófica por un proceso inflamatorio leve y como consecuencia no se produce el pelo de manera adecuada. **B** ,Fase anágena interrumpida por un proceso inflamatorio moderado teniendo un ciclo rápido y un breve crecimiento de pelo . **C** , Los folículos entran a una fase telógena prolongada con el desarrollo de la alopecia areata crónica¹⁴ .

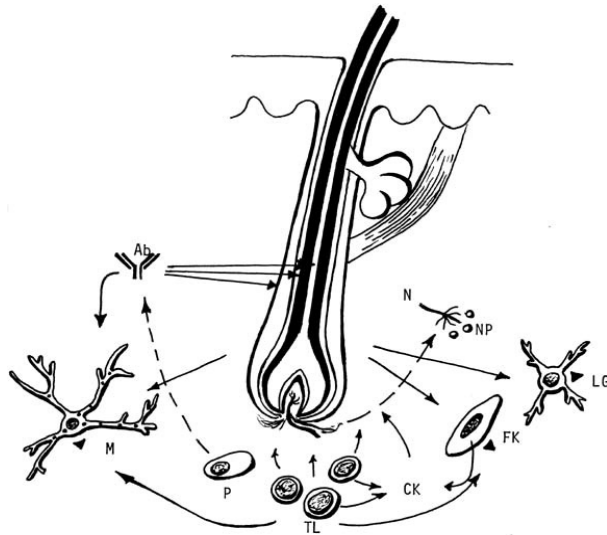


Figura 6.

Patogenia de la AA. Los linfocitos T rodean el medio perifolicular mediante la activación de una cascada de acontecimientos inmunológicos a través de la producción de citoquinas. La presentación de antígenos del epítipo responsable ayuda a impulsar la condición. El epítipo exacto puede estar en el queratinocito folicular, los melanocitos, o en la papila dérmica. Los neuropéptidos, así como el aumento de la producción de anticuerpos al folículo piloso pueden desempeñar un papel importante. Ab, anticuerpos, LG células de Langerhans, ▲ células presentadoras de antígenos, M, melanocitos, N, terminaciones nerviosas, NP, neuropéptidos, P, células plasmáticas, TL linfocitos T.¹⁵



Figura 7.- Cabello en signo de exclamación

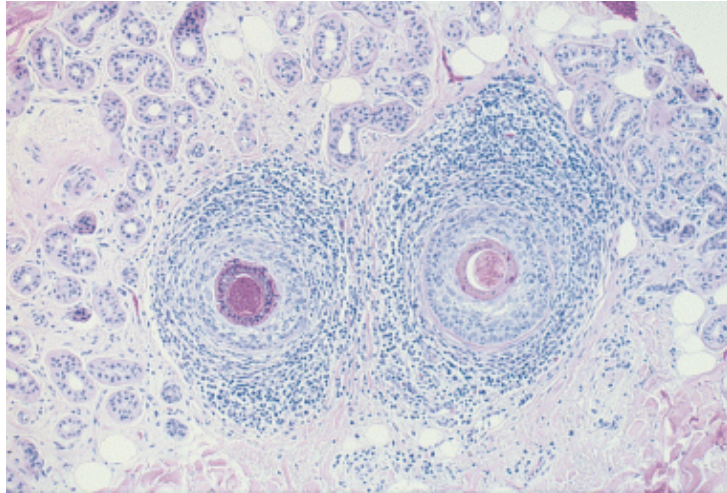


Figura 8.- Infiltrado inflamatorio linfocítico en región peribulbar. Tinción hematoxilina-eosina

TABLAS

Patrón de distribución	No. De pacientes	Porcentaje
Placas	59	83.09%
Banda/Ofiáceo	3	4.22%
Total	3	4.22%
Universal	6	8.45%

Tabla 1.- total de pacientes que acudieron a la consulta de dermatología en un periodo de un año

	Frecuencia	Porcentaje
Transtorno por ansiedad	13	39.39
Depresión	4	12.12
*Enfermedad de la piel	7	21.21
Diabetes	2	6.06
Hipertensión arterial	5	15.15
Alergia a medicamentos	2	6.05
Total	33	100

Tabla 2.-Antecedentes personales, * Incluyen: Vitiligo (4), Pitiriasis Alba (1), Dermatitis por contacto (1) y Onicomicosis (1).

* Trastornos por ansiedad y Depresión: Definiciones obtenidas según la clasificación internacional del DSM-IV

	Frecuencia	Porcentaje
Transtorno por ansiedad	4	5.19
Depresión	36	46.75
*Enfermedad de la piel	5	6.49
Diabetes	22	28.57
Hipertensión arterial	4	5.19
Alergia a medicamentos	5	6.49
Total	77	100

Tabla 3.- Antecedentes familiares. *Enfermedades de la piel incluyen: Vitiligo (3), Hansen (1), Psoriasis (1). Cáncer Incluye: Cáncer de Mama (2), Cáncer Basocelular (2). Otras: asma (1), alergia a medicamentos (2), ulcera péptica (1), rinitis (1),

	Pacientes	Porcentaje
TNF1/TNF1	50	84.75%
TNF1/TNF2	9	15.25%
Total	59	100%

	Controles	Porcentaje
TNF1/TNF1	98	95.15%
TNF1/TNF2	5	4.85%
Total	103	100%

Tabla 4.- Detección de 9 casos y 5 controles con el alelo polimórfico (TNF2), pero solo en la distribución genotípica heterocigota (TNF1/TNF2).

Genotipos TNF-α polimorfismo- 308 G/A	AA N	AA %	Px N	Px %	X²	OR	IC 95%	P
TNF1/TNF1	50	84.75	98	95.15	5.14	0.28	0.08-0.99	0.023
TNF1/TNF2	9	15.25	5	4.85	5.14	3.53	1.01-12.89	0.023
TNF2/TNF2	0	--	0	--				

Tabla 5.- Frecuencias genotípicas de pacientes y controles con el polimorfismo TNFa - 308G/A

Alelo s TNF- α polim orfi s mo- 308	AA N	AA %	Px n	Px %	X²	OR	IC 95%	P
TNF1	109	92.37	201	97.57	4.91	0.30	0.09-1.01	0.026
TNF2	9	7.63	5	2.43	4.91	3.22	0.99-11.71	0.026

Tabla 6.- Frecuencias alélicas de pacientes y controles con el polimorfismo TNFa - 308G/A

Genotipos AIRE polimorfismo 691 C/G	AA N	AA %	Px N	Px %	X²	OR	IC 95%	P
AIRE 691C/AIRE 691C	48	81.94	86	83.49	0.12	0.83	0.35-2.16	0.728
AIRE 691C/AIRE 691G	10	16.94	17	16.51	0.01	1.03	0.40-2.42	0.941
AIRE 691G/AIRE 691G	1	1.17	0	--				0.364

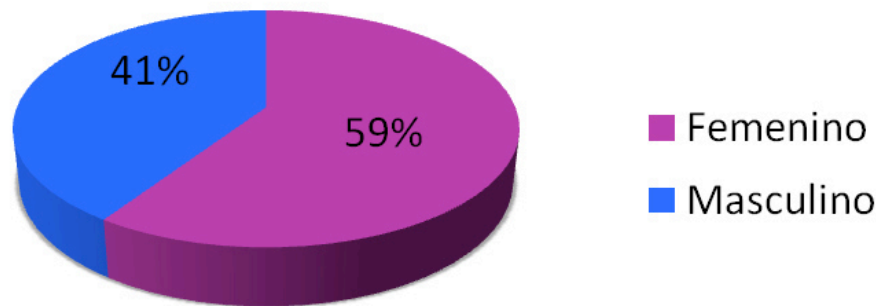
Tabla 7.-Frecuencias genotípicas de pacientes y controles con el polimorfismo AIRE - 691C/G

Alelos AIRE polimorfismo 691 C/G	AA N	AA %	Px n	Px %	X²	OR	IC 95%	P
TNF1	106	89.83	139	91.74	0.34	0.79	0.34-1.85	0.55
TNF2	12	10.16	17	8.25	0.34	1.26	1.26-2.91	0.56

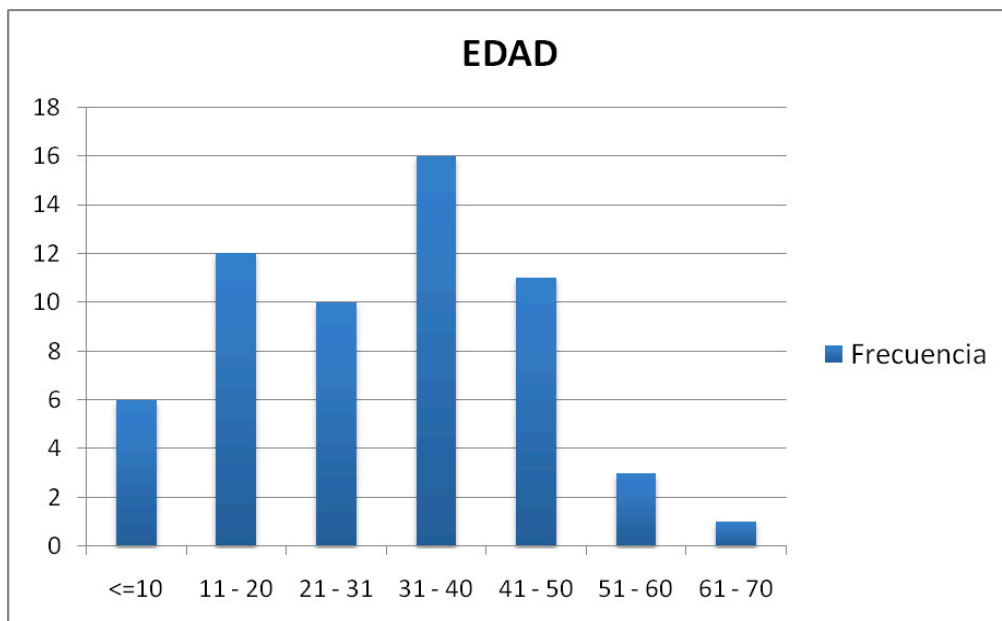
Tabla 8.- Frecuencias alélicas de pacientes y controles con el polimorfismo AIRE 691C/G

GRAFICAS

GÉNERO



Grafica 1.- Pacientes incluidos en protocolo de estudio



Grafica 2.- Pacientes por grupo de edad